



TESIS - SK142501

**SINTESIS, KARAKTERISASI DAN UJI
BIOAKTIVITAS KOMPLEKS DARI ION LOGAM
Cu(II) DENGAN LIGAN
2,6-BIS(4-NITROBENZAMIDO)PIRIDIN**

ELOK FARDA
NRP. 1413 201 027

DOSEN PEMBIMBING
Dr. Fahimah Martak, M.Si.

PROGRAM MAGISTER
BIDANG KEAHLIAN KIMIA ANORGANIK
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016



THESIS - SK142501

**SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND
BIOACTIVITY TEST OF COMPLEX FROM Cu(II)
METAL ION WITH 2,6-BIS(4-
NITROBENZAMIDO)PIRIDIN LIGAND**

ELOK FARDA
NRP. 1413 201 027

SUPEVISOR
Dr. Fahimah Martak, M.Si.

MAGISTER PROGRAM
EXPERTISE FIELD OF INORGANIC CHEMISTRY
DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY
SURABAYA
2016

**Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Sains (M.Si.)**

**Di
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
oleh:**

**ELOK FARDA
NRP. 1413201027**

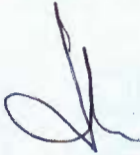
**Tanggal Ujian: 21 Januari 2016
Periode Wisuda : Maret 2016**

Disetujui oleh:



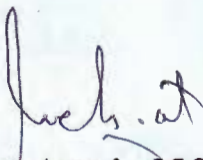
**1. Dr. Fahimah Martak, M.Si.
NIP. 19660703 199102 2 001**

(Pembimbing)



**2. Hamzah Fansuri, M.Si., Ph.D.
NIP. 19691017 199412 1 001**

(Penguji)



**3. Lukman Atmaja, M.Si., Ph.D.
NIP. 19610816 198903 1 001**

(Penguji)

Direktur Program Pascasarjana,



**Prof. Ir. Drajat Manfaat, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19601202 198701 1 001**

SINTESIS, KARAKTERISASI DAN UJI BIOAKTIVITAS KOMPLEKS DARI ION LOGAM Cu(II) DENGAN LIGAN 2,6-BIS(4-NITROBENZAMIDO)PIRIDIN

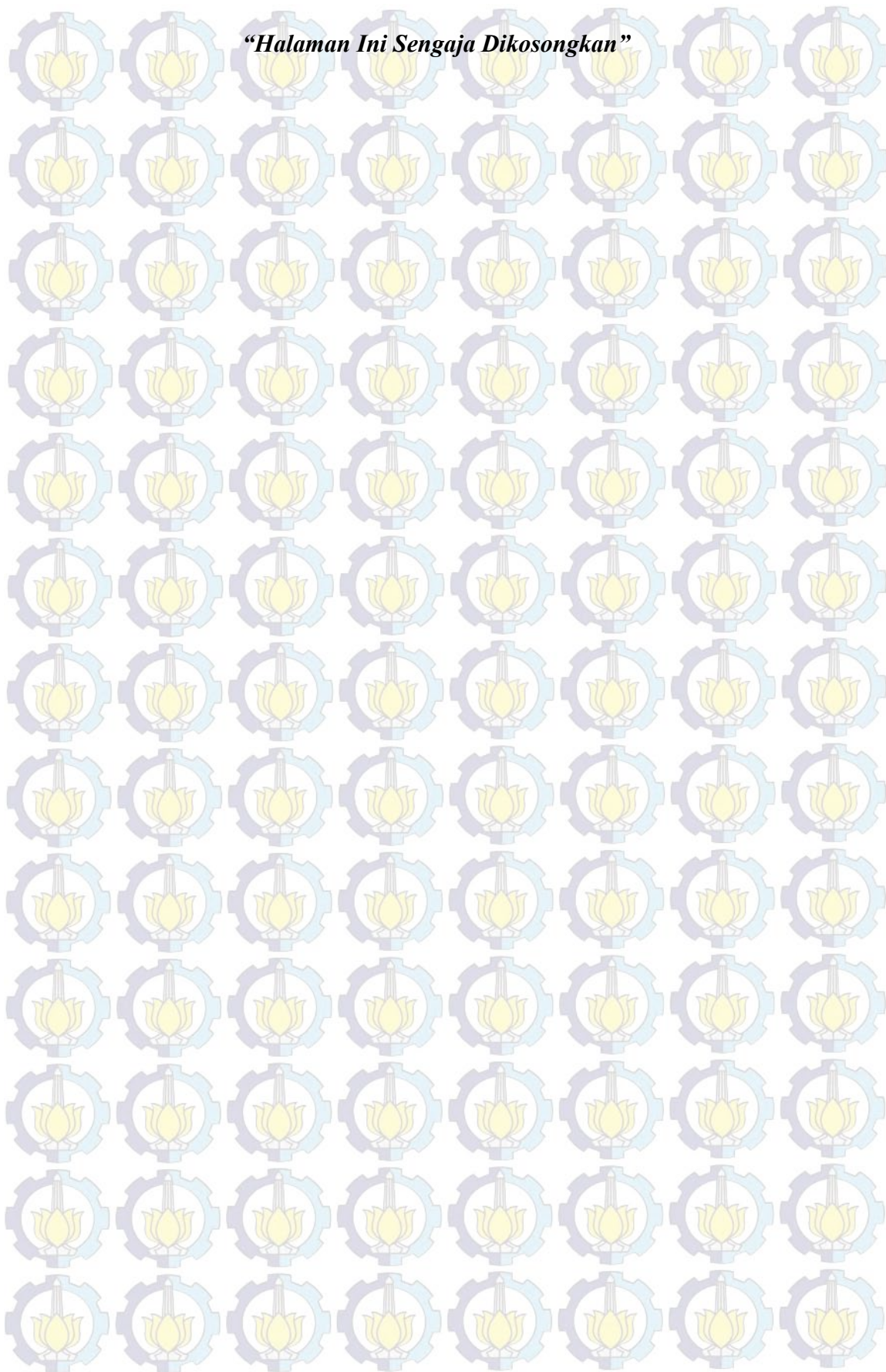
Nama Mahasiswa : Elok Farda
NRP : 1413201027
Jurusan : Kimia
Pembimbing : Dr. Fahimah Martak, M.Si

ABSTRAK

Pada penelitian ini kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) berhasil disintesis dengan perbandingan mol logam dan ligan 1:2 dalam pelarut metanol dan asetonitril. Hasil sintesis kompleks dihasilkan padatan kristalin berwarna coklat kekuningan dengan rendemen sebesar 48,94%. Kompleks Cu(II)-BNBP menyerap sinar UV-Vis pada panjang gelombang 324 nm. Hasil karakterisasi FTIR menunjukkan adanya ikatan logam dan ligan yaitu Cu-N pada bilangan gelombang 420,50 cm⁻¹. Berdasarkan analisis unsur C, H, N dan AAS dihasilkan rumus molekul kompleks yaitu [Cu(L)₂(Cl)₂]. Berdasarkan uji bioaktivitas dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test), diperoleh nilai LC₅₀ ligan BNBP sebesar 216,93 mg/l dan kompleks Cu(II)-BNBP sebesar 119,37 mg/l. Berdasarkan nilai LC₅₀ tersebut baik ligan maupun kompleks tergolong senyawa toksik rendah (low toxic).

Kata kunci: kompleks, LC₅₀, 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin

“Halaman Ini Sengaja Dikosongkan”



SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND BIOACTIVITY TEST OF COMPLEX FROM Cu(II) METAL ION WITH 2,6-BIS(4-NITROBENZAMIDO)PYRIDINE LIGAND

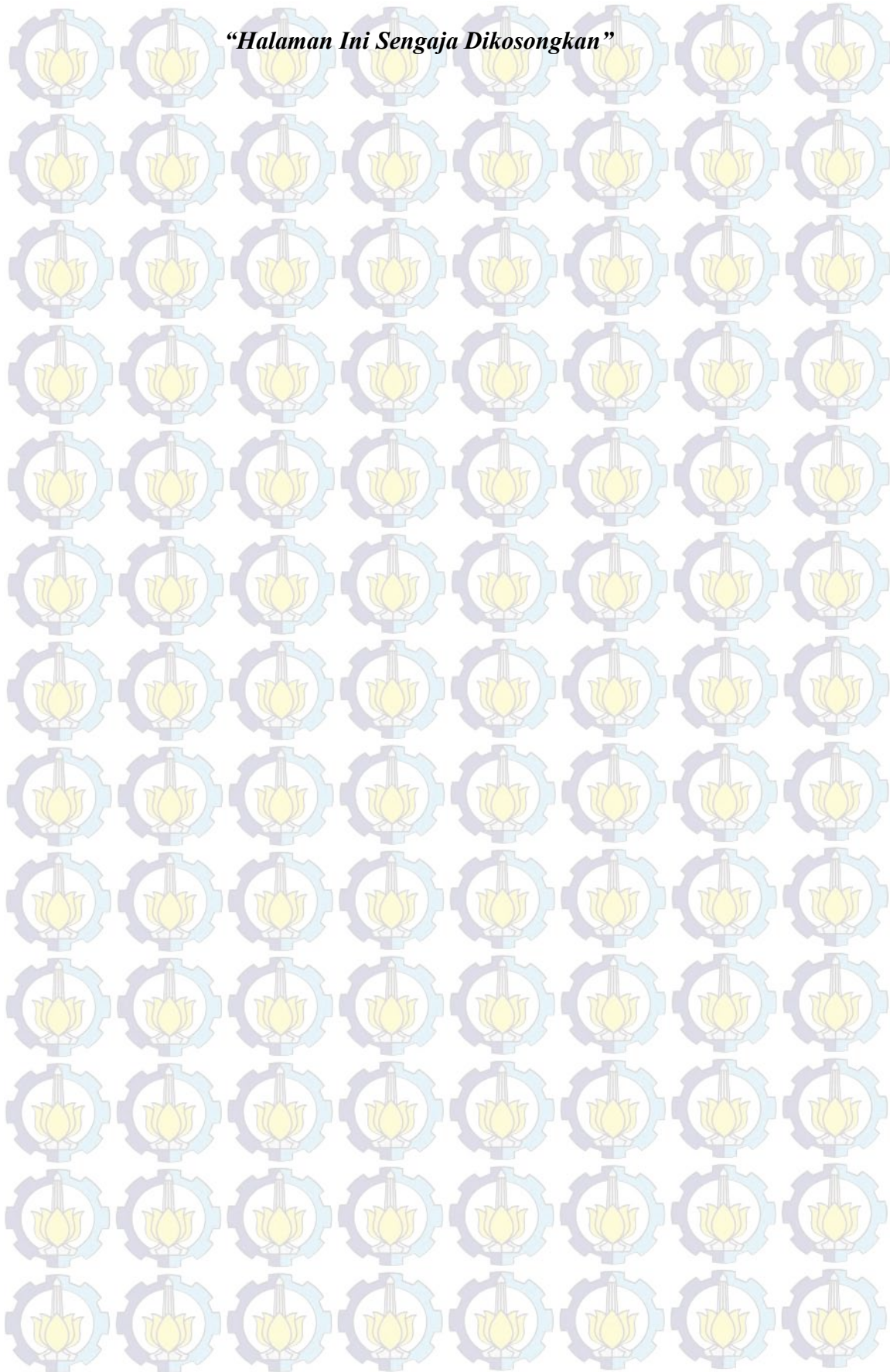
Name : Elok Farda
NRP : 1413201027
Department : Chemistry
Supervisor : Dr. Fahimah Martak, M.Si

ABSTRACT

In this study, the complex from Cu(II) metal ion with 2,6-bis(4-nitrobenzamido)pyridine (BNBP) ligand successfully synthesized with metal and ligand mole ratio of 1:2 in methanol and acetonitrile. Synthesis of complex resulting yellowish brown crystalline solid with a yield of 48,94%. Cu(II)-BNBP complex absorbs UV-Vis at a wavelength of 324 nm. FTIR characterization results indicate the presence of metal and ligand bonding is Cu-N at wave number of $420,05\text{cm}^{-1}$. Based on the analysis of C, H, N elements and AAS, complex molecule that is produced by the formula $[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{Cl})_2]$. Based on the bioactivity test by BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method, obtained the LC_{50} value of BNBP ligand of 216.93 mg/l and Cu(II)-BNBP complex of 119.37 mg/l. Based on the LC_{50} value both ligand and complex classified as low toxic compounds.

Keywords : complex, LC_{50} , 2,6-bis(4-nitrobenzamido)pyridine

“Halaman Ini Sengaja Dikosongkan”



KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT. yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Sintesis, Karakterisasi dan Uji Bioaktivitas Kompleks dari Ion Logam Cu(II) dengan Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin”.

Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi program S2 Jurusan Kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Penyusunan tesis ini dapat terselesaikan berkat adanya kerja sama dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Fahimah Martak, M.Si. selaku dosen pembimbing yang senantiasa memberikan bimbingan, masukan, saran, arahan dan motivasi dalam penyelesaian tesis.
2. Hamzah Fansuri, M.Si., Ph.D. selaku dosen ketua penguji tesis yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam penyelesaian tesis.
3. Lukman Atmaja, M.Si., Ph.D. selaku dosen penguji tesis yang telah memberikan bimbingan dan masukan dalam penyelesaian tesis.
4. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc. selaku dosen pembimbing akademik dan ketua Jurusan Kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, masukan dan arahan selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
5. Prof.Dr. Taslim Ersam, M.S. selaku Kepala Laboratorium NPCS (*Natural Products and Chemical Synthesis*) Kimia FMIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
6. Prof.Dr. Mardi Santoso selaku Kaprodi S2 Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
7. Prof.Ir.Djauhar Manfaat, M.Sc., Ph.D. selaku Direktur Program Pascasarjana Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

8. Dirjen Dikti RI yang telah memberikan beasiswa di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya selama 2 tahun.
9. Ibu, Mas Zainus dan semua keluarga yang turut memberikan do'a dan motivasi yang tiada henti dalam penyelesaian studi S2 dari awal hingga akhir.
10. Ikh yang selalu memberikan motivasi, saran, dukungan moral dan material dalam penyelesaian tesis dari awal penelitian hingga akhir.
11. Mbak Puput sebagai teman seperjuangan yang selalu memberikan saran, motivasi, yang selalu bersama dalam suka dan duka berjuang dari awal masuk S2, penelitian, seminar internasional hingga terselesaikannya tesis.
12. Teman-teman "Pendekar Makan", Mbak Mutia, Mbak Linda, Mbak Fithri, Mbak Dini, Shabrina, Fikri, Teguh, Mbak Puput yang senantiasa memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penyelesaian tesis.
13. Teman-teman anggota laboratorium NPCS yang selalu memberikan saran, bantuan dan dukungan dalam penyelesaian penelitian tesis.
14. Teman-teman seperjuangan Prodi Pascasarjana Kimia angkatan 2013 yang telah banyak memberi masukan selama menempuh masa perkuliahan maupun dalam penyelesaian tesis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tesis ini masih jauh dari sempurna, maka penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan tesis. Akhir kata, semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan penulis pada khususnya.

Surabaya, 27 Januari 2015

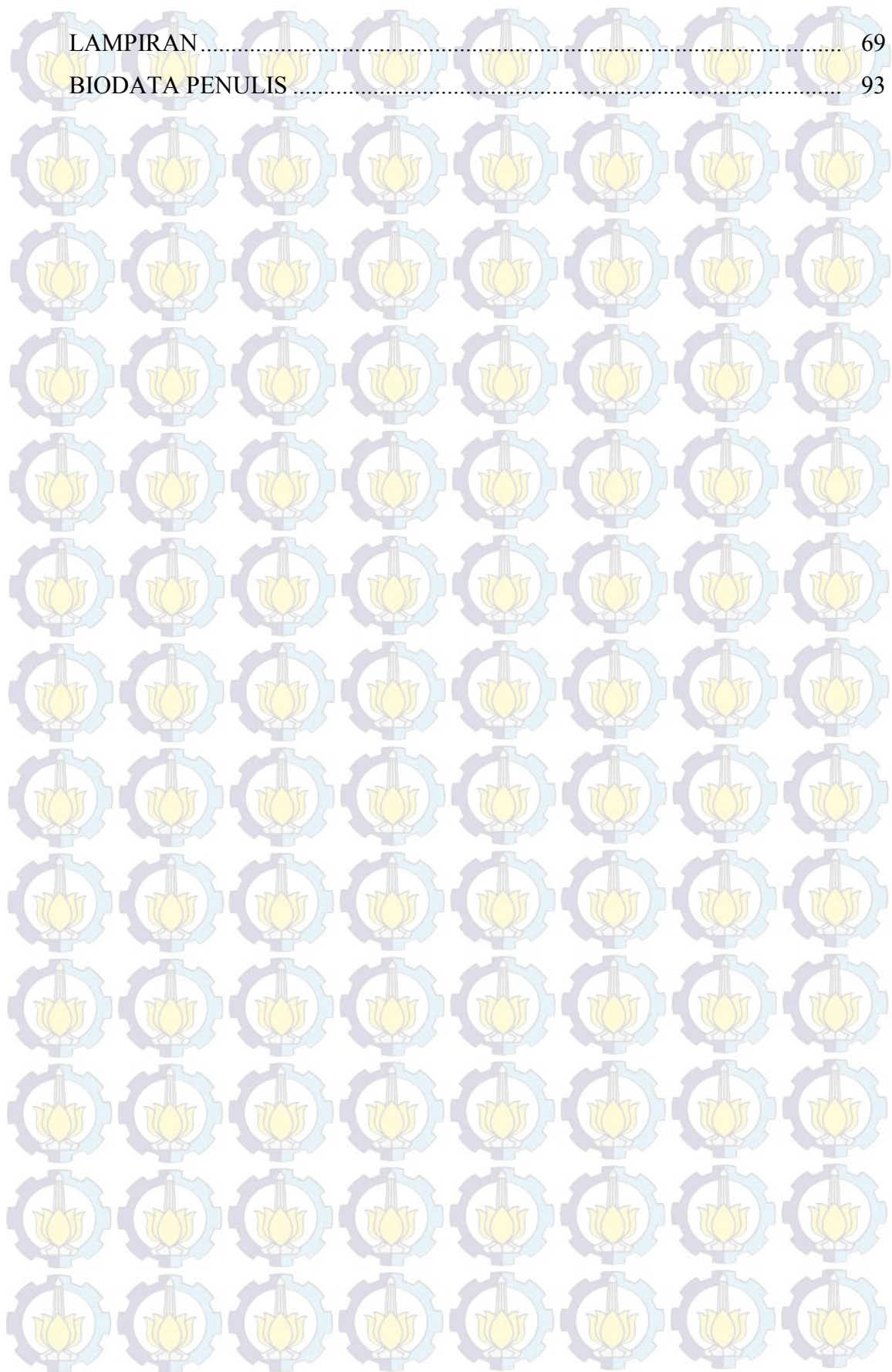
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	ix
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Umum Senyawa Kompleks dan Bioaktivitasnya.....	5
2.2 Hubungan Struktur dan Aktivitas Senyawa Obat.....	10
2.3 Senyawa 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP).....	12
2.4 Kompleks Ion Logam Cu(II) dengan Ligan Berbasis Piridin.....	12
2.5 Metode Sintesis Kompleks.....	16
2.6 Karakterisasi Senyawa BNBP dan Kompleks Cu(II)-BNBP	
2.6.1 Spektrofotometer FTIR (<i>Fourier Transform Infrared</i>).....	17
2.6.2 Spektrofotometer UV-Visible.....	22
2.6.3 Karakterisasi ¹ H-NMR, AAS (<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i>) dan C, H, N analyzer.....	23
2.6.4 TGA (<i>Thermo Gravimetric Analyzer</i>).....	26
2.7 Uji Bioaktivitas Metode BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>).....	27
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Alat dan Bahan	

3.1.1	Alat	29
3.1.2	Bahan	29
3.2	Prosedur Sintesis	
3.2.1	Sintesis Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP)	29
3.2.2	Penentuan Perbandingan Mol Logam dan Ligan	30
3.2.3	Sintesis Kompleks Cu(II)-BNBP	31
3.3	Prosedur Karakterisasi	
3.3.1	Analisis ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR	31
3.3.2	Spektrofotometer UV-Visible	31
3.3.3	Spektrofotometer FTIR (<i>Fourier-Transform Infrared</i>)	31
3.3.4	Analisis Unsur C, H, N dengan <i>Elemental Analyzer</i>	32
3.3.5	Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)	32
3.3.6	<i>Thermo Gravimetric Analyzer</i> (TGA)	33
3.4	Uji Bioaktivitas dengan metode BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)	33
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Sintesis dan Karakterisasi Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP)	35
4.2	Sintesis dan Karakterisasi Kompleks Cu(II)-BNBP	
4.2.1	Penentuan Perbandingan Mol Logam dan Ligan	44
4.2.2	Sintesis Kompleks Cu(II)-BNBP	46
4.2.3	Karakterisasi UV-Vis Logam $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Ligan BNBP dan Kompleks Cu(II)-BNBP	47
4.2.4	Karakterisasi FTIR Kompleks Cu(II)-BNBP	49
4.2.5	Penentuan Kadar Unsur C, H, N dalam Kompleks	50
4.2.6	Analisis AAS (<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i>)	51
4.2.7	Analisis TGA (<i>Thermo Gravimetric Analyzer</i>)	52
4.3	Uji Bioaktivitas Ligan BNBP dan Kompleks Cu(II)-BNBP	53
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan	59
5.2	Saran	59
DAFTAR PUSTAKA		61

LAMPIRAN	69
BIODATA PENULIS	93



DAFTAR GAMBAR

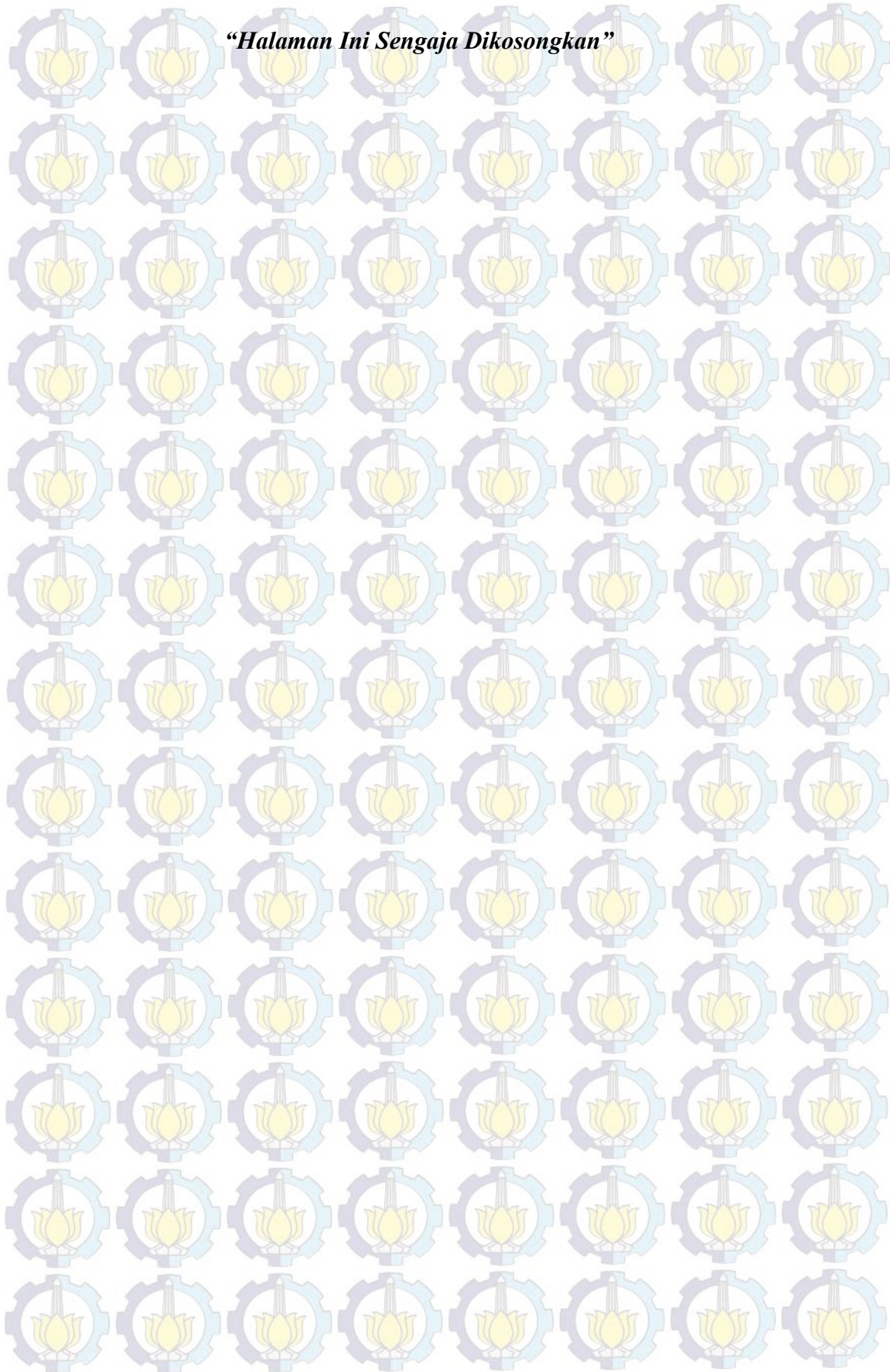
Gambar 2.1	Struktur senyawa a. cis-diamindikloroplatinum dan b. trans-diamindikloroplatinum.....	6
Gambar 2.2	Interaksi binding yang mungkin antara cisplatin yang telah terhidrolisis membentuk cis-[Pt(NH ₃) ₂ (H ₂ O)] ₂ dengan Guanin DNA	6
Gambar 2.3	Struktur senyawa karboplatin dan oxaliplatin.....	7
Gambar 2.4	Sintesis kompleks [Cu(2-benzimidazolkarbamat)Br ₂].0,7H ₂ O (Cu ₂ cmbz) dengan perbandingan ligan dan logam 1:1	7
Gambar 2.5	Struktur a. ligan 2-metil-akrilol-salisilhidrazida dan b. kompleks dari ion logam Cu(II) dan Ni(II) (M)	8
Gambar 2.6	Sintesis kompleks logam Cu(II) dengan ligan asam5-(2-hidroksifenil)-3-metil-1-(2-piridilo)-1H-pirazol-4-fosfonat, dengan perbandingan ligan dan logam a) 1:1, (b) 2:1	9
Gambar 2.7	Sintesis senyawa kompleks logam M (Cu(II), Ni(II) dan Co(II)) dengan ligan N'-(fenil(piridin-2-il)metilidin) benzohidrazida, perbandingan ligan dan logam.....	10
Gambar 2.8	Sintesis BNP dari 2,6-diaminopiridin dan nitrobenzoyl klorida	12
Gambar 2.9	Struktur kompleks [Cu ^{II} (N-2-piridilmetilidin-2-hidroksi-5-kloro fenilamin)(CH ₃ COO)(H ₂ O)].2H ₂ O	13
Gambar 2.10	Struktur senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan N'-(fenil(piridin-2-il)metilidin)benzohidrazida	14
Gambar 2.11	Struktur kompleks kloro(N(4)-fenil-2-piridinformamida tiosemikarbazonato)tembaga(II) [Cu(2Am4Ph)Cl].....	15
Gambar 2.12	Komponen dasar spektrofotometer FTIR.....	18
Gambar 2.13	Spektrum FTIR senyawa BNP	20
Gambar 2.14	Spektrum ¹ H NMR senyawa BNP.....	24
Gambar 2.15	Kurva TG-DTA senyawa kompleks (2-aminopiridin) ₂ [Mn(dimetilkantarat).6H ₂ O] dengan laju pemanasan 10°C/menit,	

	pada suhu 10°C-800°C	26
Gambar 4.1	Reaksi umum Schotten-Baumann	36
Gambar 4.2	Usulan mekanisme reaksi pembentukan ligan BNPB	38
Gambar 4.3	Padatan ligan BNPB	39
Gambar 4.4	Profil KLT ligan BNPB dalam eluen kloroform:DCM 1:2	39
Gambar 4.5	Spektrum FTIR ligan BNPB (2,6-bis(nitrobenzamido)piridin) .	40
Gambar 4.6	Spektrum ^1H -NMR ligan BNPB	42
Gambar 4.7	Struktur BNPB dan kode jenis proton	43
Gambar 4.8	Spektrum ^{13}C -NMR ligan BNPB	43
Gambar 4.9	Struktur BNPB dan kode jenis karbon ^{13}C -NMR.....	44
Gambar 4.10	Larutan kompleks perbandingan mol logam dan ligan a. 1:1, b. 1:2 dan c. 1:3	45
Gambar 4.11	Panjang gelombang maksimum larutan kompleks Cu(II)-BNPB (perbandingan mol) 1:1, 1:2 dan 1:3 dengan pelarut DMF	46
Gambar 4.12	(a) Kompleks Cu(II)-BNPB tanpa perbesaran (b) Foto mikroskop kompleks Cu(II)-BNPB (perbesaran 12 kali).....	48
Gambar 4.13	Grafik panjang gelombang maksimum larutan logam $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ligan BNPB dan kompleks Cu(II)-BNPB	49
Gambar 4.14	Perbandingan spektrum FTIR kompleks Cu(II)-BNPB dan ligan BNPB	50
Gambar 4.15	Kurva TGA kompleks Cu(II)-BNPB	53
Gambar 4.16	Kurva uji BSLT ligan BNPB.....	56
Gambar 4.17	Kurva uji BSLT kompleks Cu(II)-BNPB	57

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Bilangan gelombang FTIR beberapa gugus fungsional	19
Tabel 2.2	Data bilangan gelombang dan vibrasi molekul senyawa BNPB	20
Tabel 2.3	Bilangan gelombang vibrasi molekul Cu–N dan Cu–O pada penelitian sebelumnya	21
Tabel 2.4	Panjang gelombang spektrum tampak dan warna komplementer	22
Tabel 2.5	Pergeseran kimia senyawa BNPB pada penelitian sebelumnya.....	24
Tabel 3.1	Persentase kematian dalam variasi konsentrasi larutan uji	33
Tabel 4.1	Perbandingan bilangan gelombang FTIR ligan BNPB hasil sintesis dan penelitian sebelumnya	39
Tabel 4.2	Perbandingan pergeseran kimia ^1H -NMR ligan BNPB hasil sintesis dan penelitian sebelumnya	42
Tabel 4.3	Pergeseran kimia ^{13}C -NMR ligan BNPB	44
Tabel 4.4	Absorbansi dan panjang gelombang maksimum kompleks	46
Tabel 4.5	Panjang gelombang maksimum kompleks.....	49
Tabel 4.6	Perbandingan bilangan gelombang FTIR kompleks Cu(II)-BNPB dan ligan BNPB.....	51
Tabel 4.7	Kadar unsur C, H, N dalam kompleks secara eksperimen dan teoritis	52
Tabel 4.8	Absorbansi Cu dalam larutan kompleks.....	52
Tabel 4.9	Kadar unsur C, H, N dan Cu secara eksperimen dan teoritis	53
Tabel 4.10	Penurunan berat eksperimen dan teoritis TGA kompleks.....	54
Tabel 4.11	Data kematian larva pada variasi konsentrasi larutan ligan BNPB	55
Tabel 4.12	Data kematian larva pada variasi konsentrasi larutan kompleks Cu(II)-BNPB	55

“Halaman Ini Sengaja Dikosongkan”



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A. SKEMA KERJA

A.1 Sintesis Ligan BNPB	69
A.2 Penentuan Perbandingan Mol Logam dan Ligan	70
A.2 Sintesis Kompleks Cu(II)-BNBP	71

LAMPIRAN B. PERHITUNGAN RENDEMEN

B.1 Perhitungan Rendemen Ligan	72
B.2 Perhitungan Rendemen Kompleks	72

LAMPIRAN C. SPEKTRUM DAN DATA BILANGAN GELOMBANG

FTIR LIGAN BNPB	73
-----------------------	----

LAMPIRAN D. SPEKTRUM ¹H-NMR LIGAN BNPB DAN PERBESARAN

75

LAMPIRAN E. SPEKTRUM ¹³C-NMR LIGAN BNPB

77

LAMPIRAN F. SPEKTRUM FTIR KOMPLEKS Cu(II)-BNBP

78

LAMPIRAN G. ANALISIS PENENTUAN KADAR UNSUR C, H, N

DALAM KOMPLEKS

G.1 Hasil Analisis Kadar Unsur C, H, N Kompleks secara Eksperimen.....	81
G.2 Perhitungan Kadar Unsur C, H, N Kompleks secara Teoritis	81

LAMPIRAN H. ANALISIS AAS

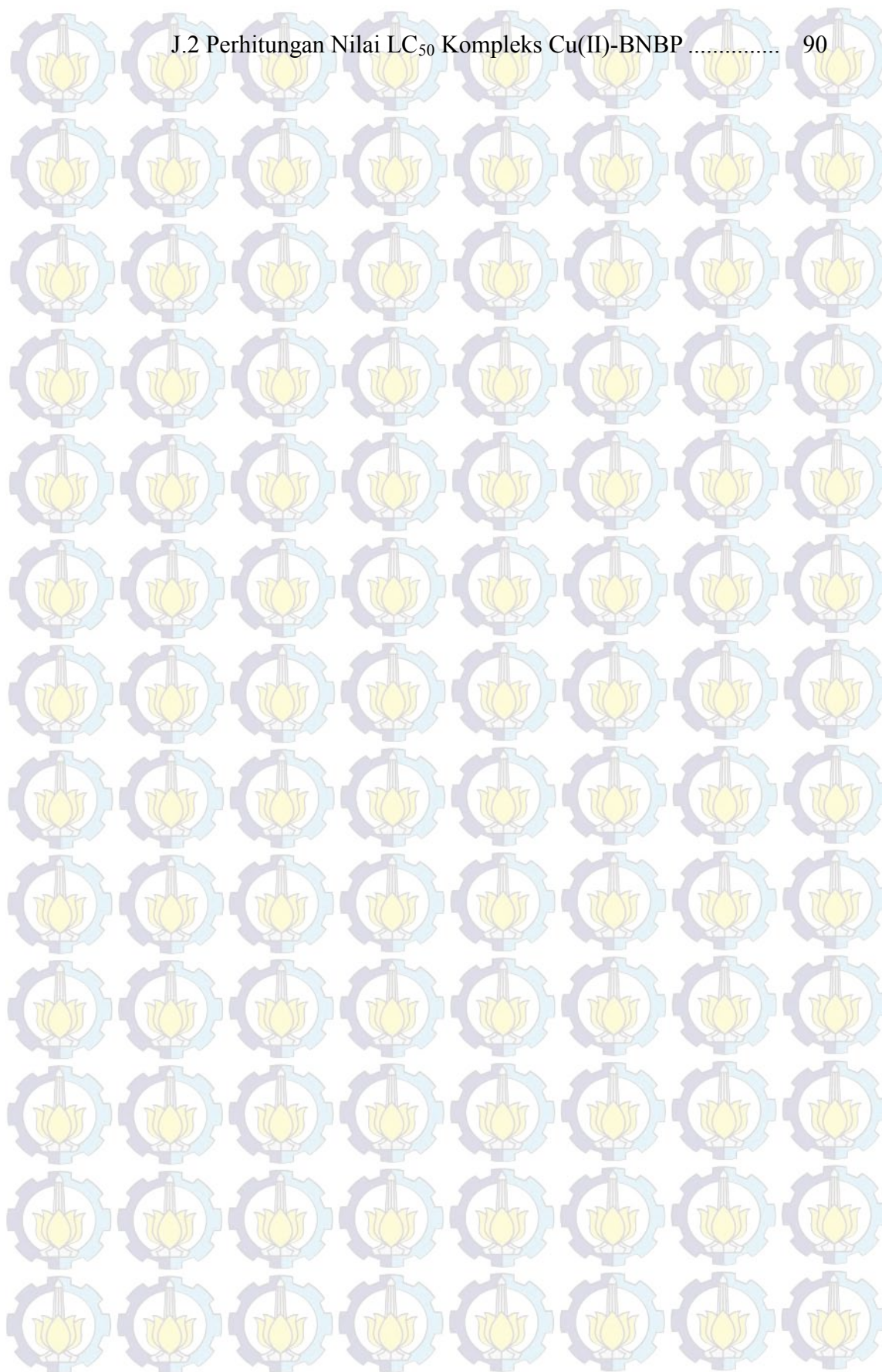
H.1 Perhitungan Kadar Ion Logam Cu(II)	83
H.2 Pembuatan Larutan Standar 2, 4, 6, 8 mg/l	83
H.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar	84
H.4 Perhitungan Kadar Ion Logam Cu(II) secara Eksperimen .	84
H.5 Perhitungan Kadar Ion Logam Cu(II) secara Teoritis.....	85

LAMPIRAN I. ANALISIS TGA KOMPLEKS

I.1 Hasil Analisis TGA Kompleks	87
I.2 Perhitungan Berat Hilang secara Teoritis	88

LAMPIRAN J. PERHITUNGAN NILAI LC₅₀

J.1 Perhitungan Nilai LC ₅₀ Ligan BNPB	89
---	----



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa kompleks banyak diteliti dan dikembangkan karena aplikasinya yang luas di bidang farmakologi. Senyawa kompleks telah diteliti memiliki beberapa aktivitas biologi dalam tubuh (bioaktivitas) diantaranya sebagai antibakteri (Luo dkk., 2009), antikanker (Krishnamoorthy dkk., 2011), antimikroba (Barreiro dkk., 2015), antituberkulosis (Machado dkk., 2015), antifungi (Medina dkk., 2015), antioksidan (Yousef dkk., 2015) dan antiinflamasi atau analgesik (Islam dkk., 2015).

Cis-platin merupakan senyawa kompleks berbasis platinum yang telah disintesis dan dikarakterisasi sejak 1845 (Peyrone, 1845; Cepeda dkk., 2007). Cisplatin diketahui memiliki aktivitas biologi karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Rosenberg dkk., 1965). Dari beberapa senyawa kompleks berbasis platinum yang telah disintesis, cisplatin memiliki sifat antiproliferasi paling baik. Berdasarkan sifat tersebut, cisplatin terus dikembangkan menjadi senyawa kompleks antikanker (Cepeda dkk., 2007). Namun, senyawa kompleks berbasis platinum tersebut menimbulkan efek samping pada dosis tertentu dan memberikan resistensi obat selama proses terapi (Jung dan Lippard, 2007; Santini dkk., 2013). Hal ini memicu adanya pengembangan penemuan senyawa kompleks baru berbasis non-platinum, dengan harapan dapat meningkatkan sifat farmakologi, mengurangi efek samping dan mendapatkan target spesifik obat yang berbeda (Qiao dkk., 2011). Beberapa ion logam non-platinum yang digunakan dalam sintesis senyawa kompleks dan memiliki sifat bioaktivitas antara lain Bi(III), Fe(III), Ga(III), Hg(II), Cd(II) Cu(II) dan Ni(II) (Machado dkk., 2014, Yousef dkk., 2015, Luo dkk., 2009).

Salah satu logam non-platinum yang dapat digunakan untuk senyawa kompleks adalah tembaga (Cu). Logam Cu merupakan unsur esensial dan berperan penting dalam sistem biologi tubuh manusia (Linder dan Azam, 1996). Logam Cu berperan dalam tubuh sebagai konstituen enzim redoks dan

hemocyanin (Huheey dkk., 1993). Logam Cu memiliki nomor atom 29 dengan konfigurasi elektron $[\text{Ar}] 4s^2 3d^9$. Kation logam Cu(II) memiliki orbital kosong yang dapat berfungsi sebagai akseptor pasangan elektron dari ligan. Berdasarkan sifatnya tersebut, logam Cu(II) dapat dijadikan salah satu logam pengkompleks ligan dan diharapkan memiliki bioaktivitas yang baik.

Pada beberapa penelitian sebelumnya dinyatakan bahwa kompleks dari ion logam Cu(II) memiliki bioaktivitas yang lebih baik jika dibandingkan dengan ion logam yang lain. Senyawa kompleks dari ligan N-2-metil-akrilil-salisilhidrazida dengan ion logam Cu(II) dan Ni(II) telah disintesis oleh Luo dkk. (2009) dan diuji bioaktivitasnya terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hasil yang diperoleh, senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) memiliki bioaktivitas yang lebih baik dari pada ion logam Ni(II) dengan nilai *minimum inhibitory concentration* masing-masing 50 $\mu\text{g/ml}$ dan 100 $\mu\text{g/ml}$. Penelitian lain dilakukan oleh Krishnamoorthy dkk. (2011). Senyawa kompleks disintesis dari ligan N'-(fenil(piridin-2-il)metilidin)benzohidrazida dengan ion logam Cu(II), Ni(II) dan Co(II). Hasil uji bioaktivitas terbaik ditunjukkan oleh kompleks dari ion logam Cu(II) terhadap sel kanker serviks dengan nilai IC_{50} sebesar 173 μM atau 114,9 $\mu\text{g/ml}$. Senyawa dengan nilai IC_{50} tersebut termasuk golongan senyawa toksik rendah (*low toxic*) (Meyer dkk., 1982).

Ligan yang biasa digunakan dan terus dikembangkan dalam penelitian bioaktivitas senyawa kompleks adalah ligan-ligan yang mengandung atom S, N dan O. Diantara ligan-ligan tersebut yang pernah diteliti adalah turunan dari ligan salisilhidrazid (Luo dkk., 2009), benzamida (El-Boraey, 2012), benzil ditiokarbamat (Islam dkk., 2014), piridin (Barreiro dkk., 2015; Machado dkk., 2014) dan benzimidazol (Habala dkk., 2015). Senyawa kompleks dari ligan berbasis benzamida telah disintesis oleh El-Boraey (2012) dan menunjukkan sifat bioaktivitas terhadap sel kanker payudara MCF-7. Senyawa kompleks dari ligan berbasis piridin memiliki sifat bioaktivitas terhadap bakteri *Candida albicans*, *Bacillus subtilis*, *Actinobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* (Barreiro dkk., 2015).

Senyawa berbasis benzamida dan piridin seperti 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) pernah disintesis oleh Taremi dkk. (2010), namun

belum dilaporkan bioaktivitasnya. Senyawa BNP merupakan senyawa yang analog dengan N-(aminopiridin)benzamida dan turunannya yang pernah disintesis oleh Zhang dan Li (2012). Salah satu turunan senyawa tersebut menunjukkan bioaktivitas terhadap sel kanker prostat PC-3, kanker payudara MDA-MB-435S, limfoma Hut-78, leukemia K-562, Jurkat E6-1 dengan masing-masing nilai IC_{50} sebesar 4,3, 5,7, 2,1, 24 dan 2,2 μM atau 1,592, 0,211, 0,777, 8,89, 0,814 $\mu g/ml$ (Zhang dan Li, 2012). Senyawa dengan nilai IC_{50} tersebut termasuk golongan senyawa toksik tinggi (*high toxic*) (Meyer dkk., 1982).

Berdasarkan latar belakang di atas, pada penelitian ini disintesis senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan BNP. Uji bioaktivitas kompleks dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Adapun klasifikasi tingkat toksisitas suatu ekstrak berdasarkan LC_{50} menurut Meyer dkk. (1982), yaitu kategori sangat tinggi (*highly toxic*) apabila mampu membunuh 50% larva pada konsentrasi 1–10 $\mu g/ml$, kategori sedang (*medium toxic*) pada konsentrasi 10–100 $\mu g/ml$, dan kategori rendah (*low toxic*) pada konsentrasi 100–1000 $\mu g/ml$.

1.2 Perumusan Masalah

Senyawa kompleks dari ligan N'-(fenil(piridin-2-yl)metilidin)benzohidrazida dengan ion logam Cu(II), Ni(II) dan Co(II) pernah disintesis oleh Krishnamoorthy dkk. (2011). Sifat bioaktivitas yang paling baik ditunjukkan oleh senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) dengan IC_{50} sebesar 173 μM atau 114,9 $\mu g/ml$. Namun senyawa kompleks tersebut termasuk kategori senyawa toksik rendah (*low toxic*) (Meyer dkk., 1982). Senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNP) berhasil disintesis oleh Taremi dkk. (2010), namun belum diketahui bioaktivitasnya. Di sisi lain, senyawa BNP analog dengan N-(aminopiridin)benzamida yang mempunyai sifat bioaktivitas terhadap sel kanker dan termasuk senyawa toksik tinggi (Zhang dan Li, 2012). Untuk itu, pada penelitian ini disintesis senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan BNP dan dilakukan uji bioaktivitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

1.3 Tujuan

Sesuai dengan perumusan yang disebutkan di atas, tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP).
2. Mendapatkan nilai LC_{50} ligan BNBP dan kompleks Cu(II)-BNBP melalui uji bioaktivitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan memberikan kontribusi bagi ilmu pengetahuan di bidang sintesis dan karakterisasi senyawa kompleks serta perkembangan bioaktivitas senyawa kompleks baru.

BAB 2

KAJIAN PUSTAKA

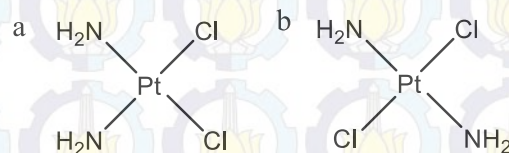
2.1 Tinjauan Umum Senyawa Kompleks dan Bioaktivitasnya

Senyawa kompleks merupakan senyawa yang tersusun dari suatu logam pusat dengan satu atau lebih ligan yang menyumbangkan pasangan elektron bebasnya kepada logam pusat. Donasi pasangan elektron ligan kepada logam pusat menghasilkan ikatan kovalen koordinasi sehingga senyawa kompleks juga disebut senyawa koordinasi (Cotton dan Wilkinson, 1989). Ikatan kovalen koordinasi menghasilkan molekul Dengan bentuk geometri yang spesifik, seperti planar, tetrahedral, dan oktahedral (Meissler dan Donald, 2005).

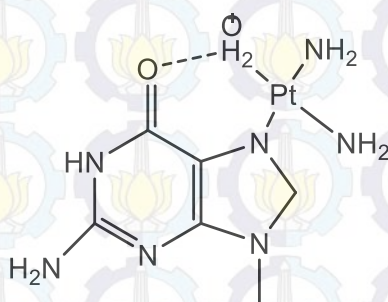
Ligan adalah suatu ion atau molekul yang memiliki sepasang elektron atau lebih yang dapat disumbangkan. Ligan merupakan basa lewis yang dapat terkoordinasi pada logam atau sebagai asam lewis membentuk senyawa kompleks. Ligan dapat berupa anion atau molekul netral (Cotton dan Wilkinson, 1989). Jika suatu logam transisi berikatan secara kovalen koordinasi dengan satu atau lebih ligan maka akan membentuk suatu senyawa kompleks, dimana logam transisi tersebut berfungsi sebagai atom pusat. Logam transisi memiliki orbital d yang belum terisi penuh yang bersifat asam lewis yang dapat menerima pasangan elektron bebas yang bersifat basa lewis. Ligan pada senyawa kompleks dikelompokkan berdasarkan jumlah elektron yang dapat disumbangkan pada atom logam.

Cis-platin merupakan senyawa kompleks berbasis platinum yang telah disintesis dan dikarakterisasi sejak 1845 (Peyrone, 1845; Cepeda dkk., 2007). Aktivitas biologi cisplatin diketahui karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (Rosenberg dkk., 1965). Dari beberapa senyawa berbasis platinum yang telah disintesis, cisplatin memiliki sifat antiproliferasi paling baik. Berdasarkan sifat tersebut, cisplatin terus dikembangkan menjadi senyawa kompleks antikanker (Cepeda dkk., 2007). Kompleks berbasis platinum telah diteliti pertama kali sebagai agen kemoterapi. Pada akhir 1960-an, penemuan dan pengembangan senyawa antikanker cisplatin ($\text{cis}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$) berperan besar

dalam kemajuan obat di bidang kimia anorganik (Lippert, 2006; Ronconi dan Sadler, 2007). Senyawa cisplatin memiliki geometri segiempat planar dan menunjukkan proses pertukaran ligan yang sangat lambat, berbeda dengan senyawa transplatin yang menunjukkan pertukaran ligan yang relatif lebih cepat.

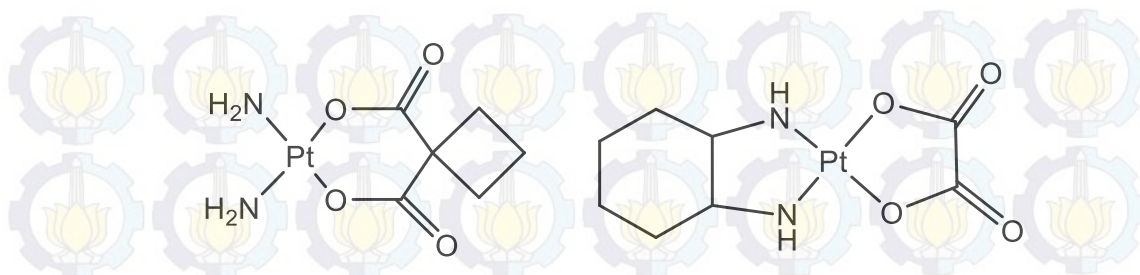


Gambar 2.1 Struktur senyawa a. cis-diamindikloroplatinum dan b. trans-diamindikloroplatinum (Reedijk dan Lohman, 1985)



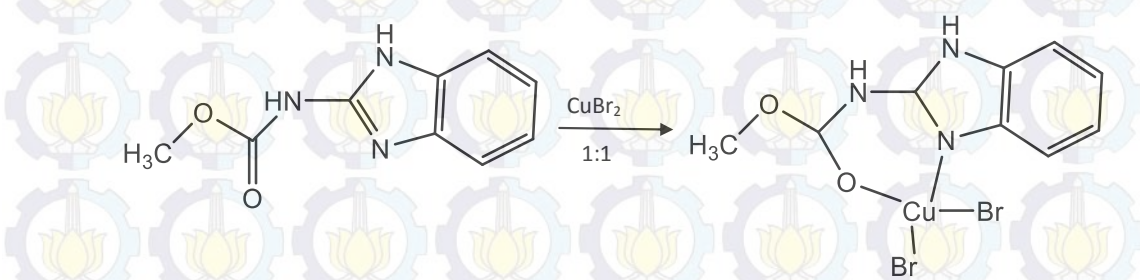
Gambar 2.2 Interaksi binding yang mungkin antara cisplatin yang telah terhidrolisis membentuk $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ dengan guanin DNA

Generasi ke-dua yang memiliki struktur serupa dengan cisplatin adalah karboplatin, dimana memiliki efek samping toksik yang lebih rendah. Namun, karboplatin hanya aktif pada beberapa sel kanker yang sama dengan cisplatin. Generasi obat ke-tiga adalah oxaliplatin yang mengandung beberapa jenis amina kiral (Warad dkk., 2013).



Gambar 2.3 Struktur senyawa karboplatin dan oxaliplatin (Rixe dkk., 1996)

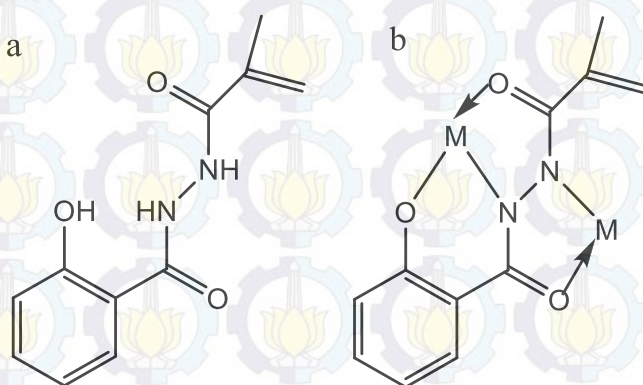
Ligan 2-metilbenzimidazol (2mbz), 2-fenilbenzimidazol (2phbz), 2-clorobenzimidazol (2cbz), 2-benzimidazolkarbamat (2cmbz) dan 2-guadininobenzimidazol (2gbz) telah dikomplekskan dengan logam Cu(II) oleh Guadarrama dkk. (2009) dan dilakukan uji aktivitas biologi pada 6 sel kanker yaitu kanker prostat (PC3), kanker payudara (MCF-7), kanker kolon (HCT-15), kanker serviks uterin (HeLa), kanker paru-paru (SKLU-1). Berdasarkan hasil uji tersebut, hanya 2 senyawa yang aktif yaitu kompleks logam Cu(II) dengan ligan 2cmbz dan 2gbz. Cu2cmbz aktif pada sel kanker HeLa dan HCT-15 dengan nilai IC_{50} yang masing-masing sebesar 95,59 dan 26,72 μ M, sedangkan Cu2gbz hanya aktif pada sel HeLa dengan nilai IC_{50} 115,29 μ M. Struktur kompleks Cu2cmbz ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Sintesis kompleks Cu(2-benzimidazolkarbamat)Br₂.0,7H₂O (Cu2cmbz) dengan perbandingan ligan dan logam 1:1 (Guadarrama dkk., 2009)

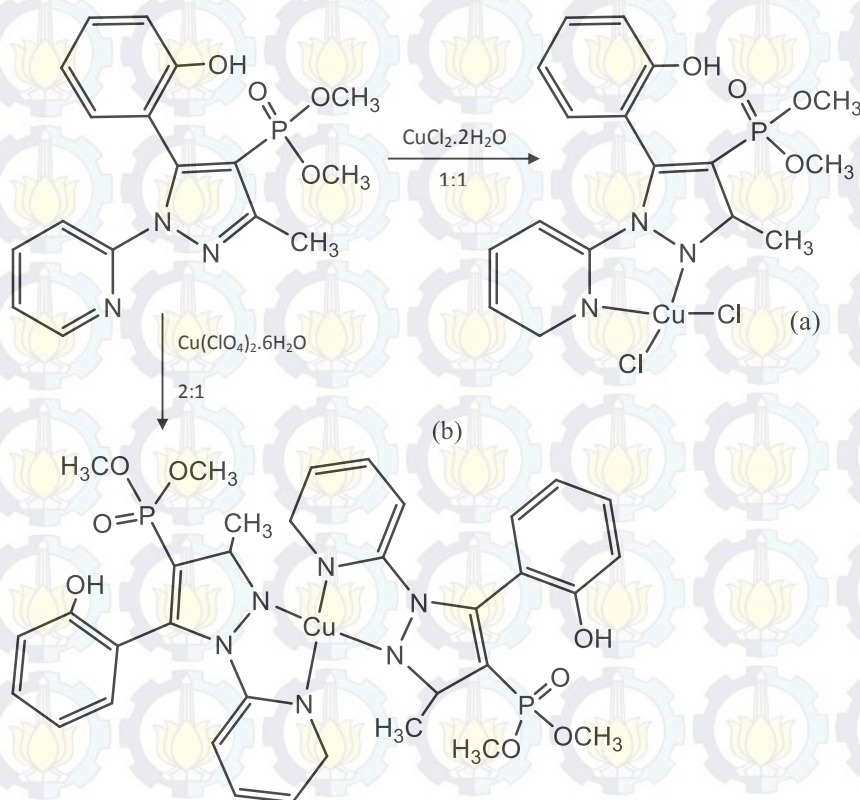
Senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) dan Ni(II) dan ligan 2-metilakrilil-salisilhidrazida telah disintesis dan diuji bioaktivitasnya terhadap bakteri *S.aureus*, *E.coli*, *B.subtillis* dan *P.vulgaris*. Hasil yang diperoleh pada bakteri *Escherichia coli*, senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) memiliki bioaktivitas

yang lebih baik dari pada ion logam Ni(II) dengan nilai *minimum inhibitory concentration* masing-masing 50 µg/ml dan 100 µg/ml. Struktur ligan dan senyawa kompleksnya dapat dilihat pada Gambar 2.5.



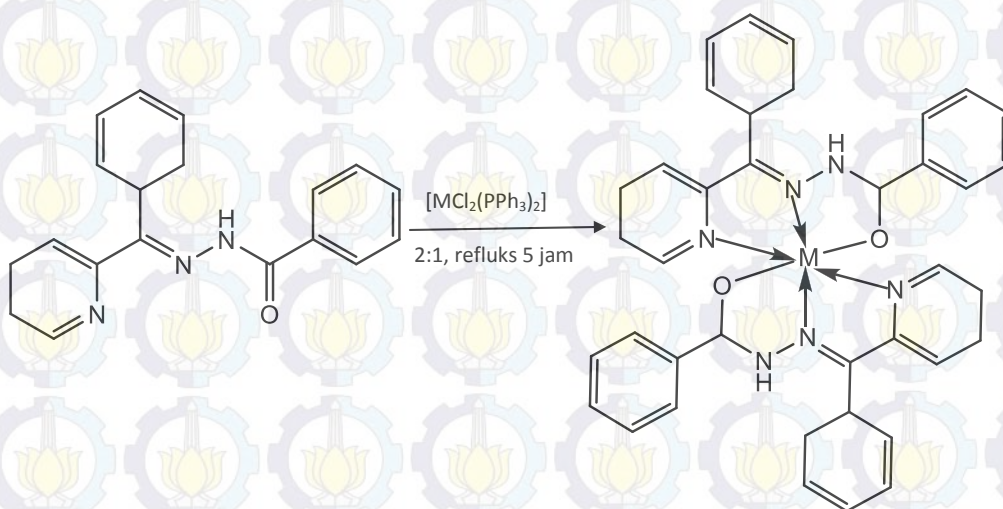
Gambar 2.5 Struktur a. ligan 2-metil-akriloil-salisilhidrazida dan b. kompleks dari ion logam Cu(II) dan Ni(II) (M) (Luo dkk., 2009)

Senyawa kompleks logam Cu(II) dengan ligan berbasis piridin dan pirazol telah disintesis oleh Budzisz dkk. (2009). Ligan yang digunakan adalah asam 5-(2-hidroksifenil)-3-metil-1-(2-piridil)-1H-pirazol-4-fosfonat. Kompleks disintesis dengan perbandingan ligan dan logam 1:1 dan 2:1 dan dihasilkan struktur a dan b seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.6. Studi sifat biologi dilakukan terhadap sel leukemia HL-60, NALM-6 dan WM-115. Nilai IC₅₀ yang diperoleh pada struktur a lebih tinggi daripada struktur b, yang berarti bahwa struktur a kurang toksik jika dibandingkan struktur b. Nilai IC₅₀ Masing-masing 56,96±4,97; 49,88±2,23; 90,5±11,69 µM untuk struktur a dan 43,9±3,6; 47,6±4,6; 81,7±3,2 µM. Hasil ini lebih besar jika dibandingkan dengan nilai IC₅₀ pada cisplatin dengan nilai IC₅₀ untuk ketiga sel uji masing-masing 0,8±0,1; 0,7±0,3; 18,2±4,3 µM.



Gambar 2.6 Sintesis kompleks logam Cu(II) dengan ligan asam 5-(2-hidroksifenil)-3-metil-1-(2-piridilo)-1H-pirazol-4-fosfonat, dengan perbandingan ligan dan logam a) 1:1, (b) 2:1 (Budzisz dkk., 2009)

Senyawa kompleks dari logam Cu(II), Ni(II) dan Co(II) dengan ligan N'-(fenil(piridin-2-il)metilidin)benzohidrazida telah disintesis oleh Krishnamoorthy dkk. (2011) dengan perbandingan ligan dan logam 2:1 seperti ditunjukkan pada Gambar 2.7. Studi sitoksisitas yang dilakukan pada sel tumor HeLa menunjukkan bahwa ketiga senyawa kompleks memiliki kemampuan mencegah proliferasi sel kanker tanpa menyebabkan kerusakan pada sel normal N1H-3T3. Hasil nilai IC_{50} yang diperoleh kompleks logam Cu(II) dan Ni(II) masing-masing sebesar 173 dan 201,5 μM , sedangkan kompleks logam Co(II) tidak menunjukkan aktivitas sitotoksik pada dosis 31-1000 μM .



Gambar 2.7 Sintesis senyawa kompleks logam M (Cu(II), Ni(II) dan Co(II)) dengan ligan N'-(fenil(piridin-2-il)metilidin)benzohidrazida, perbandingan ligan dan logam 2:1 (Krishnamoorthy dkk., 2011)

2.2 Hubungan Struktur dan Aktivitas Senyawa Obat

Telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya, beberapa kompleks logam transisi dengan ligan yang berbeda seperti *dipyridoquinoxaline* atau donor basa *Schiff* NSO menunjukkan pengikatan DNA dan membelah DNA pada radiasi cahaya tampak (Dhar dkk., 2005). Aktivitas antitumor dipengaruhi oleh cincin aromatik pada senyawa kompleks. Semakin besar sistem cincin aromatik dibuktikan dapat memberikan nilai afinitas yang lebih tinggi untuk DNA, sehingga meningkatkan aktivitas antitumor dan *photocleaving* (Leung dkk., 2003). Dalam proses ini, DNA diikat oleh molekul obat pada posisi yang berbeda dan diikat dengan membentuk ikatan yang berbeda seperti kovalen atau non-kovalen. Interaksi obat dengan DNA dapat diklasifikasikan ke dalam tiga kategori utama yaitu alkilator, interkalasi dan ikatan alur (*groove binding*) (Gowda dkk., 2014).

Senyawa dengan elektrofil kuat yang bereaksi secara kimia dengan gugus nukleofil pada DNA untuk membentuk ikatan kovalen, dikenal sebagai alkilator. Produk DNA yang dihasilkan merupakan inhibitor *irreversible* dari proses transkripsi dan translasi. Reaksi substitusi nukleofilik pada basa DNA terjadi melalui mekanisme SN_1 atau SN_2 . Situs yang paling reaktif bersifat nukleofilik dan kebanyakan ditemukan di dalam alur *duplex* DNA, seperti atom N(7) dari

guanin dan atom N(3) dari adenin. Nukleofil etilenimin dan sulfonat metana cenderung bereaksi melalui mekanisme SN_2 , sedangkan nitrogen mustard yang diperoleh dari ion aziridinium bereaksi melalui mekanisme SN_1 (Gowda dkk., 2014).

Interkalasi dan ikatan *groove* termasuk interaksi non-kovalen antara DNA dengan kompleks obat. Interkalasi melibatkan insersi molekul obat diantara pasangan basa DNA di sekitarnya yang menghasilkan simpul DNA heliks dan perpanjangan DNA (Mei dan Barton, 1986). Proses ini menyebabkan distorsi konformasi bagian belakang dari DNA, sehingga mengganggu interaksi protein-DNA. Kompleks akan distabilkan oleh interaksi π - π dengan basa DNA. Interkalator menunjukkan perturbasi struktural yang kuat dalam DNA (Garcia dkk., 2009). Molekul aromatik dan heteroaromatik dapat sesuai berada di antara pasangan basa DNA (*intercalate*) dan menstabilkan duplex tanpa merusak susunan basa. Interkalasi dapat memperpanjang duplex sekitar 3 Å per ikatan molekul obat dan menyebabkan membukanya (*unwinding*) DNA. Hal ini mencegah replikasi dan transkripsi DNA dengan menginterferasi topoisomerase (Sinha dkk., 2006). Seperti pada obat antitumor golongan *Anthracycline* yaitu *doxorubicin* dan *daunorubicin*, keduanya memiliki gugus amino pada gula. Ketika terprotonasi, membentuk interaksi ionik dengan muatan negatif pada DNA fosfat. Ikatan ini membantu meletakkan molekul pada tempatnya, menyebabkan cincin aromatik planar bergeser ke *double helix*.

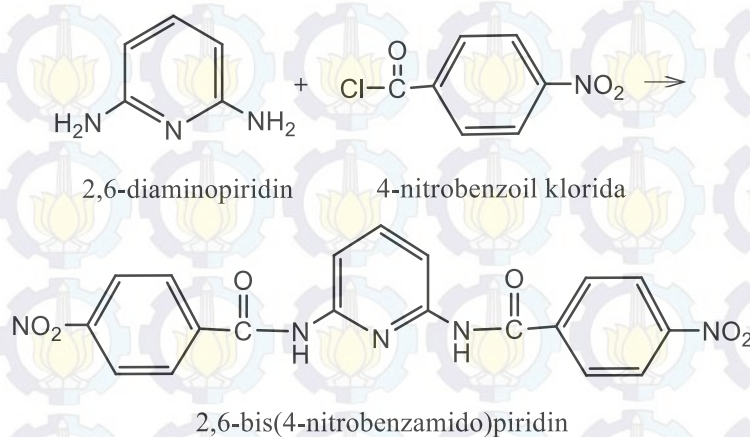
Pada ikatan alur (*groove binding*) molekul-molekul biasanya terletak di alur kecil (*minor groove*). Ikatan ini terjadi secara langsung dengan pasangan basa yang berada di tepi di salah satu alur asam nukleat utama (GC) atau kecil (AT). Tingginya potensial elektrostatik negatif pada *groove* DNA berperan penting dalam ikatan alur (*groove binding*). Pada *Groove binding* umumnya molekul pengikatnya berbentuk bulan sabit yang mengikat DNA melalui alur kecil (*minor groove*) dari DNA. Molekul tersebut memiliki donor atau akseptor atom yang mampu mengikat H dengan atom dari basa dan gugus fosfat pada bagian belakang (*backbone*) DNA. Tidak seperti interkalator, pengikat alur (*groove*) harus memiliki struktur yang fleksibel. Hal ini mengindikasikan terikatnya molekul obat pada alur *double*, *triple*, atau *G-quadruplex helix*. Hal ini

menyebabkan distorsi *backbone* DNA pada *groove-binding* lebih kecil daripada interkalasi (Tarita dkk., 2005). *Groove-binding* tidak menyebabkan perubahan konformasi DNA dan dianggap sama dengan standar model ikatan kunci-dan-kunci untuk ikatan ligan dan makromolekul. Interaksi elektrostatik, ikatan hidrogen dan ikatan *Van Der Waals* dapat menyebabkan kompleks lebih stabil daripada kompleks pada interkalasi (Jonathan, 2006).

2.3 Senyawa 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP)

Senyawa 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) secara struktur memiliki dua atom donor O dari gugus amida dan satu atom donor N dari gugus piridin. Atom-atom tersebut dapat menyumbangkan pasangan elektron bebas ke ion logam Cu(II). Struktur senyawa BNBP ditunjukkan pada Gambar 2.8.

Senyawa 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) sebelumnya telah disintesis oleh Taremi dkk. (2010) dari 2,6-diaminopiridin dan 4-nitrobenzoil klorida. Reaksi yang terjadi adalah substitusi nukleofilik dimana ion Cl sebagai gugus pergi tersubstitusi oleh atom N pada gugus amina pada 2,6-diaminopiridin.

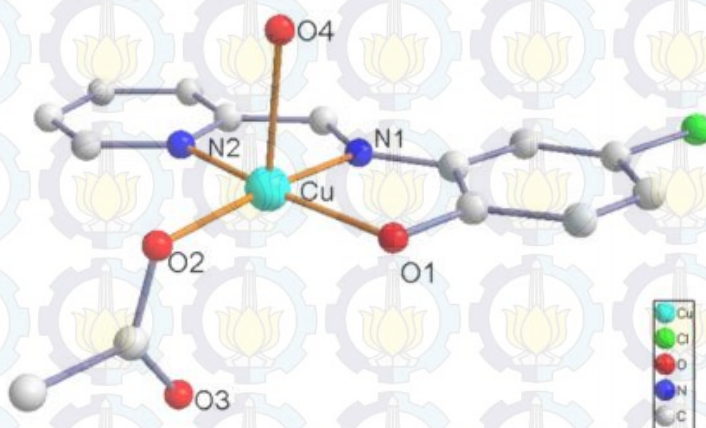


Gambar 2.8 Sintesis BNBP dari 2,6-diaminopiridin dan 4-nitrobenzoil klorida (Taremi dkk., 2010)

2.4 Kompleks Ion Logam Cu(II) dengan Ligan Berbasis Piridin

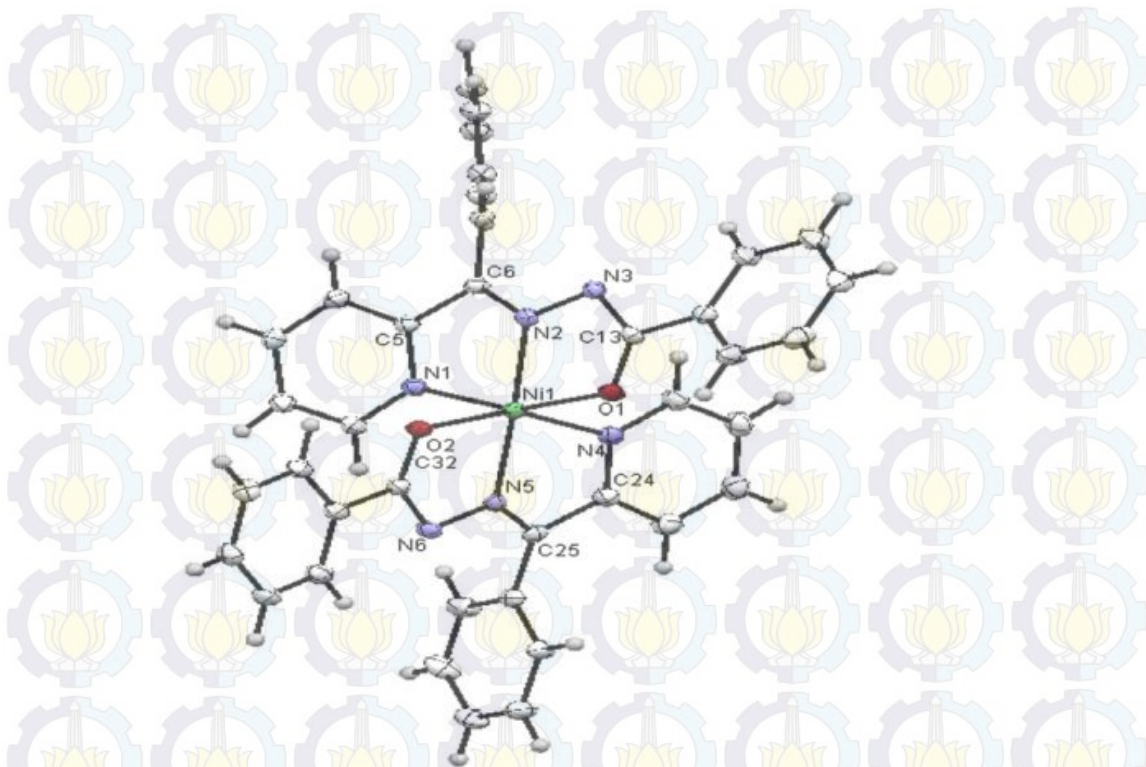
Kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan BNBP belum pernah disintesis. Pada sub bab ini dijelaskan struktur kompleks dengan ligan berbasis piridin.

Senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan berbasis piridin pernah disintesis oleh Qiao dkk. (2011) yaitu N-2-piridilmetilidin-2-hidroksi-5-kloro-fenilamin. Senyawa logam yang digunakan adalah $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Struktur kompleks dapat dilihat pada Gambar 2.9.



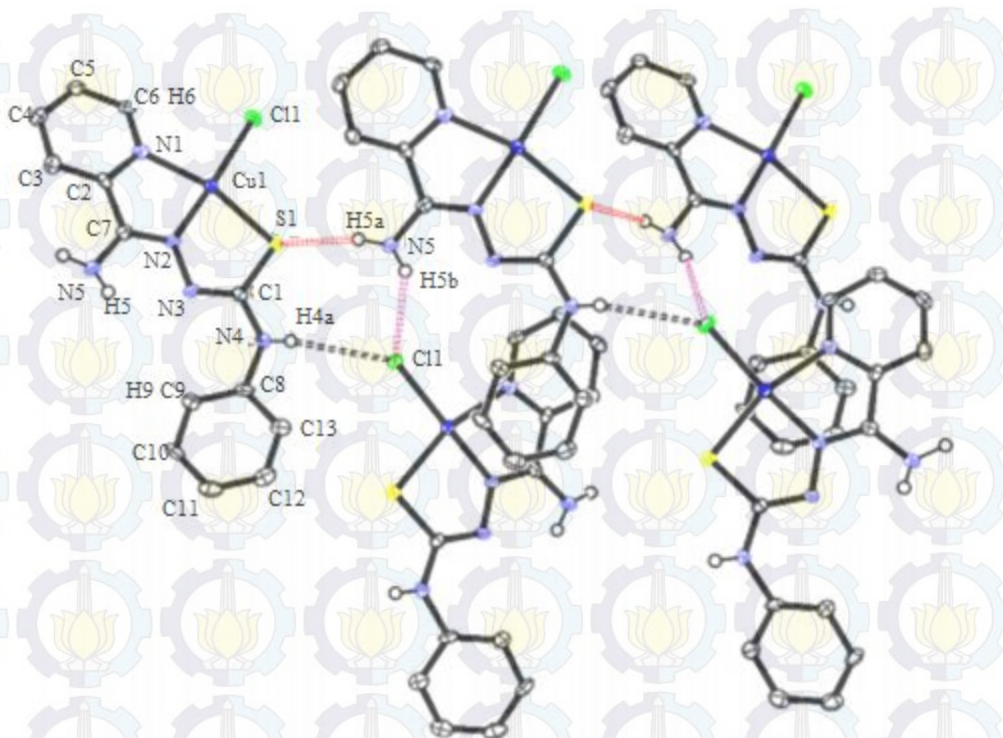
Gambar 2.9 Struktur kompleks $[\text{Cu}^{\text{II}}(\text{N-2-piridilmetilidin-2-hidroksi-5-kloro-fenilamin})(\text{CH}_3\text{COO})(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Qiao dkk., 2011)

Sistem kristal pada kompleks adalah monoklinik dengan *space group* P2(1)/c . Logam Cu(II) pada kompleks tersebut terkoordinasi lima, yaitu dengan tiga atom oksigen dan dua atom nitrogen. Bidang ekuatorial dibentuk dari satu atom oksigen hidroksi fenil ($\text{Cu}-\text{O3}_{\text{fenil hidroksi}}$ 1,959 Å), dua atom nitrogen ($\text{Cu}-\text{N4}_{\text{piridil}}$ 2,021 Å) dan ($\text{Cu}-\text{N3}_{\text{alkilamin}}$ 1,976 Å) dan satu atom oksigen ($\text{Cu}-\text{O3}_{\text{asetat}}$ 1,950 Å), sedangkan posisi apikal ditempati oleh satu atom oksigen ($\text{Cu}-\text{O4}_{\text{air}}$ 2,281 Å) dengan panjang ikatan paling besar. Geometri yang terbentuk adalah *pseudo-square-pyramidal* terdistorsi, dimana atom Cu tertarik keluar dari bidang sebesar 0,1163 Å, tetapi secara normal dapat diamati sebagai geometri *five-coordinate square-pyramidal*.



Gambar 2.10 Struktur senyawa kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan N'-(fenil(piridin-2-il)metilidin)benzohidrazida (Krishnamoorthy dkk., 2011)

Pada penelitian Krishnamoorthy dkk. (2011) telah disintesis kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan N'-(fenil(piridin-2-il)metilidin)benzohidrazida. Struktur ortep dapat dilihat pada Gambar 2.10. Geometri koordinasi ion logam Cu(II) dengan ligan N'-(fenil(piridin-2-il)metilidin)benzohidrazida yang ditunjukkan oleh Gambar 2.10 adalah oktahedral terdistorsi dengan sistem kristal triklinik (*space group* P-1). Dua ligan senyawa kompleks tersebut terkoordinasi pada ion logam Cu(II) sehingga membentuk empat cincin kelat. Bidang basal terdiri dari atom nitrogen imin (N2, N5), oksigen enolat (O2) dan nitrogen piridil (N4), sedangkan atom nitrogen piridil (N1) dan oksigen enolat (O1) mengisi posisi apikal. Dua ikatan pusat Cu–N1 memiliki panjang ikatan 2,054 Å dan Cu–O1 2,023 Å, sedangkan pada bidang basal panjang ikatan Cu–N2 1,948 Å, Cu–O2 2,215, Cu–N5 2,011 Å dan Cu–N4 2,320 Å. Secara keseluruhan, kompleks tersebut memiliki struktur tetragonal memanjang dimana ikatan Cu–N1 dan Cu–O1 lebih panjang daripada ikatan koordinasi pada bidang basal.



Gambar 2.11 Struktur kompleks kloro(N(4)-fenil-2-piridinformamida tiosemikarbazonato)tembaga(II) $[\text{Cu}(\text{2Am4Ph})\text{Cl}]$ (Ferraz dkk., 2009)

Pada penelitian Ferraz dkk. (2009) telah disintesis kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan turunan 2-piridinformamida. Struktur kompleks kloro(N(4)-fenil-2-piridinformamida tiosemikarbazonato)tembaga(II) $[\text{Cu}(\text{2Am4Ph})\text{Cl}]$ dapat dilihat pada Gambar 2.11. Senyawa mengandung ligan tiosemikarbazon yang terdeprotonasi dengan formasi dua cincin kelat beranggota lima. Distorsi geometri *square planar* Cu(II) disempurnakan oleh gugus klorida. Distorsi penataan ulang *square planar* ideal muncul dari sudut kecil kelat N(2)-Cu(1)-N(1) $80,34(15)^\circ$ dan N(2)-Cu(1)-S(1) $83,73(10)^\circ$. Angka di belakang kurung adalah ketelitian yang dikenakan pada angka terakhir di belakang koma (Sukirman dkk., 2012). Fragmen molekul yang terdiri dari cincin piridin dan cincin kelat (atom C6, C5, C4, C3, C2, N1, C2, C7, N2, N3, S1 dan Cu) berbentuk planar. Pada bidang planar tersebut, bidang yang mengandung gugus fenil (C8-C13) membentuk sudut $21,53(7)^\circ$. Ikatan hidrogen intramolekul N5-H5-N3, C6-H6-C11 dan C9-H9-N3 dapat menyatukan struktur molekul.

2.5 Metode Sintesis Kompleks

Terdapat beberapa metode yang digunakan untuk sintesis senyawa kompleks diantaranya solvothermal, hidrotermal, refluks, *H-tube* dan *schlenk*.

Solvothermal adalah metode sintesis untuk menumbuhkan kristal dari suatu campuran larutan dalam suatu *autoclave* pada suhu tinggi. Proses solvothermal menyebabkan dekomposisi atau reaksi kimia antara prekursor dengan pelarut pada suhu yang lebih tinggi daripada titik didih pelarut. Tekanan dapat dibuat *autogeneous* (nilai tekanan bergantung pada pengisian bejana reaksi) atau diberi tekanan pada titik awal eksperimen melalui kompresi media reaksi (tekanan <1 bar (10^5 Pa)) (Demazeau, 2010). Sintesis kompleks dengan metode solvothermal pernah dilakukan oleh Macneill (2011). Logam $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan ligan asam 2,5-tiofendikarboksilat dilarutkan dengan pelarut DMF dalam sebuah tabung. Tabung tersebut didinginkan di bawah *bath* nitrogen cair, *flame-sealed* dalam kondisi vakum dan dipanaskan pada suhu 105°C selama 24 jam.

Metode hidrotermal adalah metode sintesis untuk menumbuhkan kristal dari suatu campuran larutan dalam suatu *autoclave* pada suhu tinggi menggunakan media aquos. Sintesis dilakukan pada tekanan *autogeneous* dimana sesuai dengan tekanan uap jenuh larutan pada komposisi larutan hidrotermal dan suhu tertentu (Suchanek dan Riman, 2006). Sintesis kompleks dengan metode hidrotermal pernah dilakukan oleh Guan dan Wang (2015). Logam SrCl_2 dan ligan 1,10-fenantrolin dilarutkan dalam air terdeionisasi. Campuran diaduk selama 3 jam kemudian ditempatkan di *autoclave* dan dipanaskan pada suhu 120°C selama 2 hari.

Metode refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Metode sintesis kompleks menggunakan refluks pernah dilakukan oleh Krishnamoorthy dkk. (2011) dan El Boraey (2012). Logam $[\text{CoCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$, $[\text{NiCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$, $[\text{CuCl}_2(\text{PPh}_3)_2]$ direaksikan dengan ligan hidrazon dalam pelarut metanol di dalam refluks selama 5 jam. Produk dicuci dengan metanol dan dikeringkan di dalam vakum (Krishnamoorthy dkk., 2011).

Schlenk merupakan metode yang digunakan untuk mensintesis senyawa yang sensitif terhadap udara. Pada beberapa studi, produk akhir sintesis cukup

stabil, tetapi senyawa intermediet sangat sensitif udara. Rangkaian alat terdiri atas dua tabung gelas (*double manifold*), salah satu dihubungkan dengan pompa vakum (kemampuan reduksi gas di bawah 10^{-2} Torr) dan salah satu yang lain dengan tabung gas inert. Pompa vakum digunakan untuk menghilangkan molekul gas di dalam *vessel*. *Vessel* kemudian diisi ulang dengan gas inert. Tekanan di dalam gas dijaga di atas tekanan atmosfer menggunakan ventilasi gas inert di dalam *manifold* melalui *bubbler* merkuri (Girolami dkk., 1956). Sintesis dengan teknik *schlenk* pernah dilakukan oleh Kitagawa (1991) di bawah atmosfer argon. Sintesis dengan metode *schlenk* juga dilakukan oleh Butler dkk. (1985) dan Deawati dkk. (2013) di bawah kondisi N_2 . Padatan tris-etilendiaminbesi(II) sulfat dan tetrasianonikelat(II) masing-masing dideoksigenasi di dalam *manifold schlenk* selama 15 menit kemudian dilarutkan dalam aquades bebas oksigen. Kedua larutan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga terbentuk kompleks (Deawati dkk., 2013).

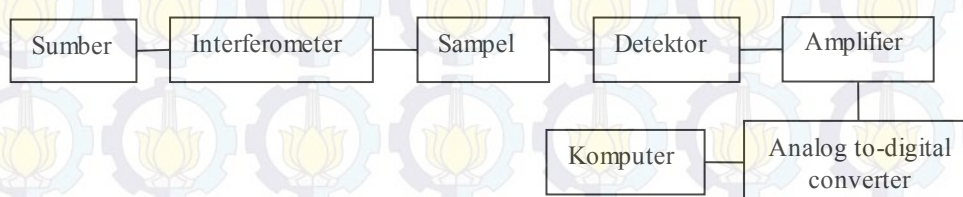
H-tube merupakan sebuah tabung berbentuk H. Dua bagian vertikal tabung berisi larutan prekursor, sedangkan satu bagian horizontal tabung adalah tempat kedua prekursor bereaksi untuk membentuk kristal. Metode *H-tube* pernah digunakan untuk mensintesis kompleks polimer $[Fe(pikolinat)_3]$ $[MnNi(oksalat)_3].CH_3OH$. $MnCl_2.4H_2O$ dilarutkan dengan metanol kemudian ditambahkan $NiCl_2.4H_2O$ yang telah dilarutkan dengan metanol. Campuran ditambahkan asam oksalat yang telah larut. Campuran diaduk selama 30 menit pada suhu ruang dan atmosfer nitrogen. Campuran diletakkan pada sisi kanan *H-tube*. $FeCl_2.6H_2O$ dilarutkan dengan metanol kemudian direaksikan dengan larutan pikolinat. Campuran diletakkan pada sisi kiri *H-tube* (Martak dkk., 2014). Kristal tumbuh secara perlahan pada sisi tengah *H-tube*.

2.6 Karakterisasi Ligan BNBP dan Kompleks Cu(II)-BNBP

2.6.1 Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Spektroskopi *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) didasarkan atas adanya interferensi radiasi antara dua sinar untuk menghasilkan sebuah interferogram. Sebuah sinyal dihasilkan sebagai fungsi pengubahan panjang jalur antara dua sumber cahaya. Kedua domain dari jarak dan frekuensi dapat saling

bertukar dengan metode matematik *Fourier-transformation*. Komponen dasar dari spektrometer secara sistematis ditunjukkan pada Gambar 2.12. Radiasi yang muncul dari sumber dilewatkan melalui suatu interferometer menuju sampel sebelum mencapai detektor. Setelah amplifikasi sinyal, di mana kontribusi frekuensi tinggi telah dieliminasi oleh filter, data dikonversi ke bentuk digital oleh konverter analog digital dan dipindahkan ke komputer untuk *Fourier-transformation* (Stuart, 2004).



Gambar 2.12 Komponen dasar spektrofotometer FTIR (Stuart, 2004)

Karakterisasi dengan spektrometer FTIR menghasilkan gugus-gugus fungsional pada bilangan gelombang atau frekuensi tertentu. Pada karakterisasi ini akan dipelajari model binding ligan ke logam dengan pergeseran frekuensi serapan antara ligan dan kompleks

Jumlah energi yang diperlukan untuk meregangkan suatu ikatan tergantung pada tegangan ikatan dan massa atom yang terikat. Bilangan gelombang suatu serapan dapat dihitung menggunakan persamaan yang diturunkan dari Hukum Hooke.

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{f(m_1 + m_2)}{m_1 m_2}} \quad \dots\dots\dots (2.1)$$

Persamaan di atas menghubungkan bilangan gelombang dari vibrasi regangan (ν) terhadap konstanta gaya ikatan (f) dan massa atom (gram) yang digabungkan oleh ikatan (m_1 dan m_2). Konstanta gaya merupakan ukuran tegangan dari suatu ikatan. Persamaan tersebut menunjukkan bahwa ikatan yang lebih kuat dan atom yang lebih ringan menghasilkan frekuensi yang lebih tinggi.

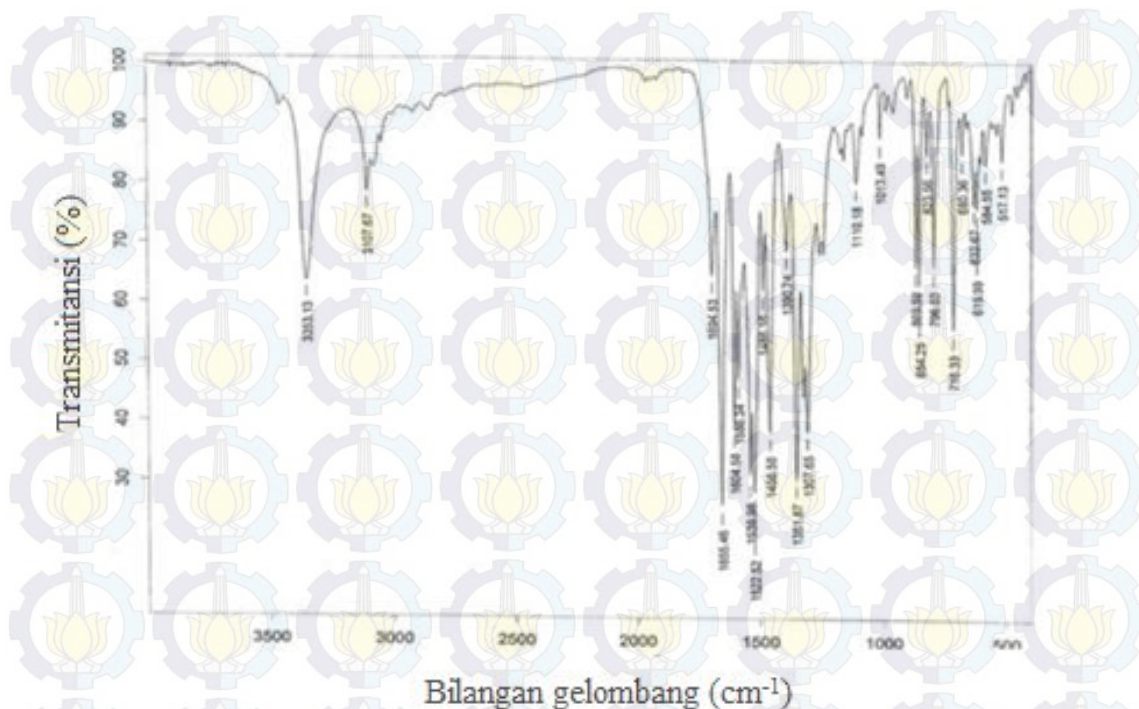
Semakin kuat suatu ikatan, semakin besar energi yang dibutuhkan untuk meregangkan ikatan tersebut. Bilangan gelombang vibrasi berbanding terbalik dengan massa atom sehingga vibrasi atom yang lebih berat terjadi pada bilangan gelombang yang lebih rendah (Bruice, 2001). Adapun bilangan gelombang beberapa vibrasi gugus fungsional ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Bilangan gelombang FTIR beberapa gugus fungsional

Vibrasi molekul	Bilangan gelombang (cm^{-1})
<i>Stretching</i> N–H amida sekunder	3300-3250
<i>Stretching</i> C=O amida sekunder	1680-1640
Kopling <i>Stretching</i> C–N amida dan <i>bending</i> N–H	1560-1530
<i>Stretching</i> C–H aromatik	3100-3000
<i>Stretching</i> C=N piridin	1615-1565
<i>Stretching</i> NO ₂ simetri	1300-1270
<i>Stretching</i> NO ₂ asimetri	1660-1620
<i>Stretching, wagging</i> N–H amida sekunder	3300-3250 750-650

Sumber: Stuart, 2004

Senyawa 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) telah disintesis dan dikarakterisasi dengan spektrofotometer FTIR (Ataei dan Taremi, 2010). Beberapa puncak vibrasi terdapat pada spektrum yang ditunjukkan pada Gambar 2.12. Vibrasi-vibrasi tersebut diantaranya *stretching* N-H amida, *stretching* C-H aromatik, *stretching* C=O amida, *stretching* C-N piridin dan *stretching* NO₂, *Wagging* N-H amida.



Gambar 2.13 Spektrum FTIR senyawa BNPB (Ataei dan Taremi, 2011)

Data bilangan gelombang FTIR senyawa BNPB dapat dilihat pada Tabel 2.2. Vibrasi *Stretching* NO₂ asimetri dan simetri diamati pada bilangan gelombang 1522 cm⁻¹ dan 1351 cm⁻¹. Vibrasi *Stretching* C=O amida diamati pada bilangan gelombang 1694 cm⁻¹. Vibrasi *stretching* N-H amida diamati pada bilangan gelombang 3353,13 cm⁻¹, sedangkan vibrasi *stretching* C-N piridin diamati pada bilangan gelombang 1586,34 cm⁻¹.

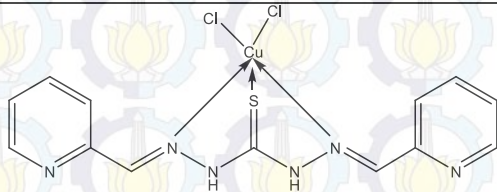
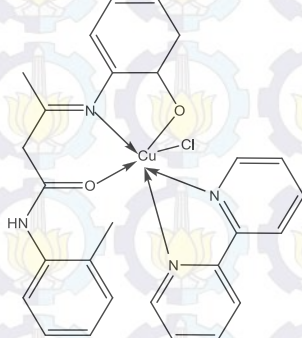
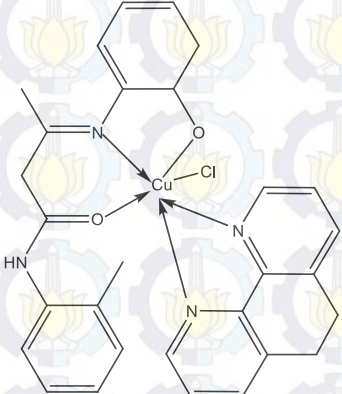
Tabel 2.2 Data bilangan gelombang dan vibrasi molekul senyawa BNPB

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Vibrasi molekul
3353,13	<i>Stretching</i> N-H amida
3107,67	<i>Stretching</i> C-H aromatik
1655,46	<i>Stretching</i> C=O amida
1586,34	<i>Stretching</i> C-N piridin
1456,3	<i>Stretching</i> C=C aromatik
1307,78; 1348,29	<i>Stretching</i> C-N aromatis
869,92	<i>Stretching</i> N-O nitrat
715,61	<i>Wagging</i> N-H amida sekunder

Sumber: Ataei dan Taremi 2011

Spektrum FTIR dapat digunakan untuk mengetahui adanya ikatan logam dan ligan pada kompleks. Seperti pada penelitian sebelumnya, terdapat puncak baru yang muncul pada spektrum kompleks dan tidak terdapat pada spektrum ligan. Adapun data beberapa bilangan gelombang yang menunjukkan ikatan logam-ligan pada penelitian sebelumnya ditampilkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Bilangan gelombang vibrasi molekul Cu–N dan Cu–O pada penelitian sebelumnya

Kompleks	Frekuensi vibrasi logam Cu (cm^{-1})		Referensi
	Cu–N	Cu–O	
	508	-	Tiwari dkk., (2011)
	423	555	Pothiraj dkk., (2012)
	426	559	Pothiraj dkk., (2012)

Berdasarkan tabel di atas, menurut penelitian Tiwari dkk. (2011) vibrasi logam dan ligan Cu–N tampak pada bilangan gelombang 508 cm^{-1} , sedangkan

vibrasi ligan dan logam Cu-O muncul pada bilangan gelombang 555 cm^{-1} dan 559 cm^{-1} pada penelitian Pothiraj dkk. (2012).

2.6.2 Spektrofotometer UV-Visible

UV-Vis atau *ultraviolet-visible* digunakan untuk mengkaji sifat absorpsi material dalam rentang panjang gelombang ultraviolet (mulai 200 nm) hingga mencakup semua panjang gelombang cahaya tampak (sampai sekitar 700 nm) (Abdullah dan Khairurrijal, 2010).

Ketika cahaya melewati atau dipantulkan dari sampel, jumlah cahaya yang diserap adalah perbedaan antara radiasi insiden (I_0) dan radiasi yang ditransmisikan (I). Jumlah cahaya yang diserap dinyatakan sebagai transmitansi atau absorbansi. Transmitansi biasanya dinyatakan dalam istilah fraksi 1 atau persentase dan didefinisikan sebagai berikut:

$$T = I/I_0 \text{ atau } \% T = (I/I_0) \times 100 \dots\dots\dots (2.2)$$

Absorbansi dinyatakan sebagai:

$$A = -\log T = -\log(I/I_0) = \log(I_0/I) = \epsilon bc \dots\dots\dots (2.3)$$

Dimana ϵ adalah absorpsi molar atau koefisien ekstinsi. C adalah konsentrasi absorpsi (mg/l). Persamaan ini biasa dikenal sebagai hukum Beer.

Beberapa kompleks organik dan anorganik menunjukkan tipe absorpsi transfer muatan kompleks. Sebuah transfer muatan kompleks terdiri atas pendonor elektron yang terikat pada akseptor elektron, dalam hal ini biasanya merupakan logam. Ketika produk menyerap radiasi, sebuah elektron dari pendonor ditransferkan ke orbital yang sebagian besar terikat pada akseptor tersebut. Keadaan tereksitasi yang demikian ini merupakan semacam produk proses oksidasi atau reduksi. Sifat ini berbeda dengan kromofor organik dimana elektron tereksitasi dalam sebuah orbital molekul yang dibagi oleh dua atom atau lebih (Skoog dkk., 1992).

Logam transisi juga mempunyai tingkat energi elektronik yang menyebabkan absorpsi daerah UV pada 400-700 nm (Owen, 2000). Rentang panjang gelombang spektrum tampak dan warna-warna komplementer dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Panjang gelombang spektrum tampak dan warna komplementer

Panjang gelombang (nm)	Warna	Warna komplementer
400-435	Ungu	Kuning-kehijauan
435-480	Biru	Kuning
480-490	Hijau-biru	Oranye
490-500	Biru-kehijauan	Merah
500-560	Hijau	Merah-keunguan
560-580	Kuning-kehijauan	Ungu
580-595	Kuning	Biru
595-610	Oranye	Hijau-kebiruan
610-750	Merah	Biru-kehijauan

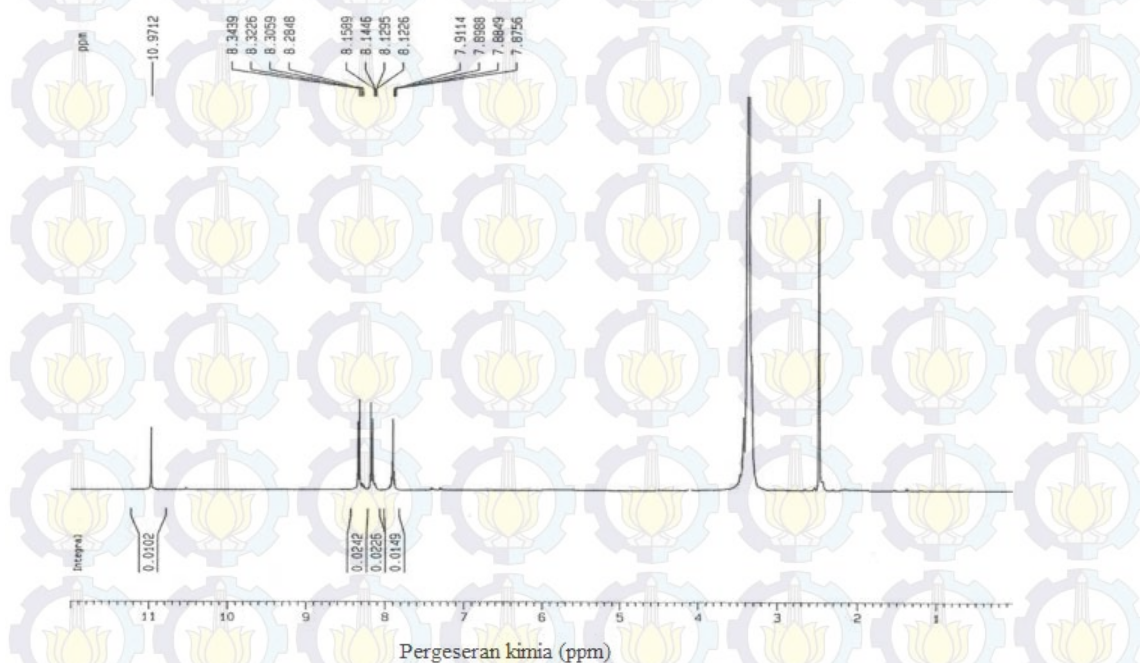
Sumber: Day dan Underwood, 2002

Pada penelitian ini spektrofotometer UV-Vis juga digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan transisi elektronik yang terjadi pada ligan dan kompleks. Adanya pergeseran atau munculnya puncak baru dapat dijadikan analisis terbentuknya kompleks. Pada penelitian Tiwari dkk. (2011), senyawa kompleks $\text{Cu}^{\text{II}}[\text{N}^1\text{N}^5\text{-bis[piridin-2metilen]-tiokarbohidrazon}]$ terdapat pergeseran panjang gelombang pada transisi $n \rightarrow \pi^*$ ($\text{HC}=\text{N}$) antara ligan dan kompleks yaitu dari 340 nm ke 355 nm yang menunjukkan adanya koordinasi N ke ion logam Cu(II). Munculnya puncak baru pada bilangan gelombang 425 nm menunjukkan adanya transisi kompleks $d \rightarrow d$ pada kompleks.

2.6.3 Karakterisasi ^1H -NMR, AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*) dan C, H, N analyzer

NMR adalah metode spektroskopi yang paling kuat dan banyak digunakan untuk penentuan struktur molekul dalam larutan dan cairan murni. NMR dapat memberikan informasi mengenai bentuk simetri yang lebih baik dan pasti daripada teknik spektroskopi lainnya seperti IR dan Raman.

Spektrum ^1H -NMR ligan BNPB dengan pelarut DMSO-d_6 pada penelitian Ataei dan Taremi (2011) dapat dilihat pada Gambar 2.14. Pada gambar tersebut muncul delapan puncak proton sejenis dari senyawa BNPB.



Gambar 2.14 Spektrum ^1H -NMR senyawa BNPB (Ataei dan Taremi, 2011)

Data pergeseran kimia dan jenis proton ligan BNPB ditampilkan pada Tabel 2.5. Pada pergeseran kimia (δ_{H}) 10,97 ppm merupakan puncak singlet 2 proton dari gugus amida. Pada pergeseran 8,31 ppm dan 8,17 ppm masing-masing merupakan puncak doublet 4 proton dari gugus fenil. Pada pergeseran (δ_{H}) 7,89 dan 7,87 ppm, masing-masing menunjukkan puncak triplet dan doublet proton piridin.

Tabel 2.5 Pergeseran kimia senyawa BNPB pada penelitian sebelumnya

Pergeseran kimia (ppm)	Kode proton	
10,97	Ha	
8,32	Hb	
8,15	Hc	
7,89-7,87	Hd, He	

Sumber: Ataei dan Taremi 2011

Karakterisasi AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*) digunakan untuk melakukan analisis logam pada konsentrasi yang sangat kecil dalam suatu sampel. Sampel yang dianalisis dapat berwujud padat, cair maupun gas, namun jika sampel berupa padatan dan gas harus diperlakukan terlebih dahulu agar berbentuk cair. Pada karakterisasi AAS diperoleh konsentrasi logam dalam kompleks.

Pada karakterisasi mikrounsur C, H, N, unsur utama dari senyawa organik seperti karbon, hidrogen, dan nitrogen biasanya ditentukan menggunakan *analyzer* komersial CHN dan CHNS (Fadeeva dkk., 2008). Analisis unsur CHNS merupakan metode cepat untuk penentuan karbon, hidrogen, nitrogen dan sulfur dalam matriks organik dan jenis bahan lainnya. Analisis ini dapat menganalisis berbagai jenis sampel, termasuk padatan, cairan, sampel yang mudah menguap dan kental, di bidang farmasi, polimer, kimia, lingkungan, makanan dan energi. Para analisis sering dibangun dalam bentuk modular sehingga mereka dapat diatur dalam sejumlah konfigurasi yang berbeda untuk menentukan, misalnya, CHN, CHNS, CNS atau N bergantung pada aplikasi (Thompson, 2008).

Dalam proses pembakaran (1000°C), karbon dikonversi menjadi karbon dioksida; hidrogen menjadi air; nitrogen menjadi gas nitrogen atau oksida nitrogen dan sulfur menjadi sulfur dioksida. Jika terdapat unsur-unsur lain seperti klorin, maka juga akan dikonversi ke produk pembakaran, seperti hidrogen klorida.

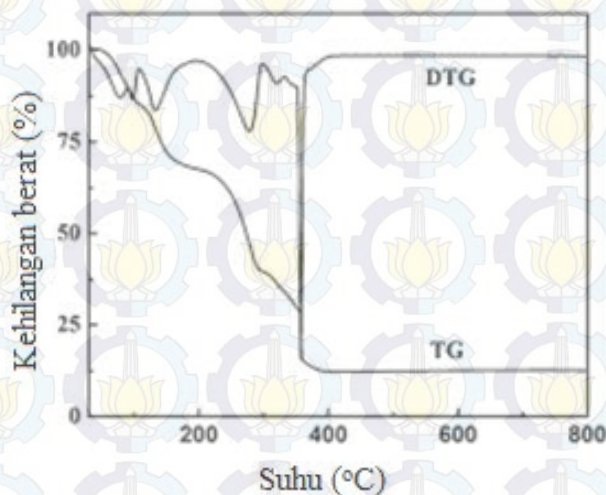
Produk pembakaran disapu keluar dari *chamber* dengan gas inert seperti helium dan melewati pemanasan tembaga murni (sekitar 600°C). Tembaga ini dapat berada di dasar *chamber* pembakaran atau di tungku terpisah. Fungsi tembaga ini adalah untuk menghilangkan oksigen yang tidak dipakai dalam pembakaran awal dan untuk mengkonversi oksida nitrogen menjadi gas nitrogen. Gas-gas tersebut kemudian melewati perangkap penyerap untuk menyisakan karbon dioksida, air, nitrogen dan sulfur dioksida (Thompson, 2008).

Contoh analisis mikro unsur kompleks $\text{Cu}^{\text{II}}[5\text{-Cl-N-2-piridilmetilidin-2-hidroksi-5-kloro-fenilamin}](\text{OAc})(\text{H}_2\text{O})\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dengan rumus $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{ClCuN}_2\text{O}_6$ adalah C 41,22%, H 4,18% dan N 6,83% (Qiao dkk., 2011).

2.6.4 TGA (*Thermo Gravimetric Analyzer*)

Analisis TGA adalah suatu teknik analitik untuk menentukan stabilitas termal suatu material dan fraksi komponen volatil dengan menghitung perubahan berat yang dihubungkan dengan perubahan suhu. Seperti analisis ketepatan yang tinggi pada tiga pengukuran yaitu berat, suhu, dan perubahan suhu. Suatu kurva hilangnya berat dapat digunakan untuk mengetahui titik hilangnya berat. TGA biasanya digunakan pada riset dan pengujian untuk menentukan karakteristik material seperti polimer, untuk menentukan penurunan temperatur, kandungan material yang diserap, komponen anorganik dan organik di dalam material, dekomposisi bahan yang mudah meledak, dan residu bahan pelarut. TGA juga sering digunakan untuk kinetika korosi pada oksidasi temperatur tinggi.

Pengukuran TGA dilakukan di udara atau pada atmosfer yang inert, seperti Helium atau Argon, dan berat yang dihasilkan sebagai fungsi dari kenaikan temperatur. Pengukuran dapat juga dilakukan pada atmosfer oksigen (1-5% O₂ di dalam N₂ atau He) untuk melambatkan oksidasi.



Gambar 2.15 Kurva TG-DTA senyawa kompleks (2-aminopiridin)₂ [Mn(dimetilkantarat).6H₂O] dengan laju pemanasan 10°C/menit, pada suhu 10°C-800°C (Zhang dkk., 2012).

Suatu kompleks dengan rumus (2-aminopiridin)₂ [Mn(dimetilkantarat)₂.6H₂O] atau MnC₂₆H₄₂N₄O₁₆ telah dikarakterisasi sifat termal dengan analisis TGA. Terdapat 3 tahap dalam analisis proses termal

senyawa tersebut. Tahap pertama pada kisaran suhu 53°C - 102°C terjadi dehidrasi 6 molekul air kristal sebesar 14,26 % (secara teori 15,05%). Tahap kedua terjadi kehilangan berat pada kisaran suhu 103°C - 251°C yaitu hilangnya 2 molekul asam 2-aminopiridin sebesar 25,62 % (secara teori 26,34%). Kompleks menunjukkan puncak tajam pada temperatur 252°C - 398°C dengan kehilangan berat sebesar 47,65 % (secara teori 48,78 %) yaitu dekomposisi 2 molekul dimetil kantarat. Pada temperatur di atas 398°C sudah tidak terjadi kehilangan berat. Residu sampel adalah MnO dengan berat 10,70% dari massa awal (secara teori 9,83 %) (Zhang dkk., 2012).

2.7 Uji Bioaktivitas Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Salah satu metode awal untuk uji toksisitas adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Sebuah metode menggunakan air garam udang diusulkan sebagai analisis sederhana untuk penelitian produk alami. Uji ini merupakan uji pendahuluan untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa. Prosedur ini dapat menentukan nilai LC₅₀ dalam satuan mg/ml senyawa aktif dan ekstrak dalam media air garam. Aktivitas berbagai senyawa aktif difungsikan sebagai racun bagi udang. BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker. Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Metode ini cepat, efektif, murah, dan nyaman sebagai alat analisis umum di rumah (Meyer dkk., 1982).

Uji BSLT dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* dilakukan dengan menetasakan telur-telur tersebut dalam air laut yang dibantu dengan aerasi. Telur *Artemia salina* menetas sempurna menjadi larva dalam waktu 24 jam. Larva *Artemia salina* yang baik digunakan untuk uji BSLT adalah yang berumur 48 jam karena jika lebih dari 48 jam dapat menyebabkan kematian (Meyer dkk., 1982).

Sifat toksik diketahui berdasarkan jumlah kematian larva. Kematian larva diamati secara visual. Data kematian larva merupakan acuan untuk menghitung *lethal concentration* dengan analisa probit. Jumlah larva yang mati dihitung rata-rata dalam tiga kali replikasi. Selanjutnya dihitung persentase kematian dan log konsentrasi. Hubungan nilai logaritma dari konsentrasi bahan uji dengan nilai

probit dari persentase kematian larva merupakan fungsi linier dari $y = ax + b$. Nilai LC_{50} diperoleh dari hasil antilog nilai uji x . Nilai y pada persamaan merupakan probit mortalitas sebesar 50% ($y=50$) (Hendri dkk., 2010). Y adalah persentase kematian sedangkan x adalah log konsentrasi. Dengan disubstitusi angka 50 pada y , akan diperoleh nilai x (log konsentrasi), sehingga dihasilkan nilai antilog x yang merupakan konsentrasi kematian sel sebesar 50% atau LC_{50} .

Suatu zat bersifat toksik jika memiliki nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ untuk senyawa hasil ekstrak dan $LC_{50} < 200 \mu\text{g/ml}$ untuk suatu senyawa (Juniarti dkk., 2009). Adapun klasifikasi tingkat toksisitas suatu ekstrak berdasarkan LC_{50} menurut Meyer dkk. (1982), yaitu kategori sangat tinggi (*highly toxic*) apabila mampu membunuh 50% larva pada konsentrasi 1–10 $\mu\text{g/ml}$, kategori sedang (*medium toxic*) pada konsentrasi 10–100 $\mu\text{g/ml}$, dan kategori rendah (*low toxic*) pada konsentrasi 100–1000 $\mu\text{g/ml}$.

Pada penelitian Ferraz dkk. (2009), uji BSLT dilakukan pada kompleks Cu(II) dengan ligan piridiniformamidtiosemikarbazon ($\text{CuC}_{13}\text{H}_{13}\text{SCIN}_5$) dan dihasilkan LD_{50} sebesar 7,2 $\mu\text{mol/l}$ atau setara dengan 19,49 mg/l.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah erlenmeyer, gelas ukur, corong pemisah, pipet ukur, pipet tetes, *hotplate magnetic stirrer*, pengaduk magnet, labu leher tiga, vakum evaporator, oven, timbangan analitik dan kertas saring. Untuk tahap karakterisasi digunakan instrumen spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) SHIMADZU 8400S, spektroskopi ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR Jeol 500 di ITD (*Institute Tropical Disease*) UNAIR Surabaya, foto mikroskop Olympus cx21 di Laboratorium Botani Jurusan Biologi ITS, spektrofotometer UV-Visible di Laboratorium Fundamental Jurusan Kimia ITS, C, H, N *analyzer* Eager 300, AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*) ZEEnit 700 di Laboratorium Instrumen Jurusan Kimia ITS, dan TGA (*Thermo Gravimetric Analyzer*) METTLER STAR SW10.00 di Laboratorium Material dan Metalurgi ITS. Uji bioaktivitas digunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). di Laboratorium NPCS jurusan Kimia ITS.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan kimia dari Merck dan Sigma yang memiliki kemurnian pro analis (p.a) meliputi 2,6-diaminopiridina, N-metil-2-pirolidin (NMP), propilen oksida, 4-nitrobenzoiil klorida, tembaga klorida ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), metanol, asetonitril, dimetilformamid dan aquades. Bahan untuk uji bioaktivitas adalah larva udang *Artemia salina*.

3.2 Prosedur Sintesis

3.2.1 Sintesis Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP)

Sintesis ligan BNBP dilakukan sesuai dengan prosedur sebagaimana yang dilaporkan oleh Taremi dkk. (2010). Sejumlah 1,637 gram (0,03 mol) 2,6-diaminopiridina dan 45 mL N-metil-2-pirolidin (NMP) dimasukkan dalam labu

dasar bulat berleher tiga 250 ml (yang sebelumnya telah dilengkapi dengan *magnetic stirrer* dan tabung inlet gas nitrogen). Campuran diaduk pada suhu 0°C selama setengah jam. Selanjutnya, sebanyak 26,5 ml propilen oksida dan 8,352 gram (0,09 mol) 4-nitrobenzoil klorida ditambahkan ke dalam labu dan diaduk selama 30 menit pada suhu 0°C. Suhu reaksi selanjutnya dinaikkan hingga suhu ruang (22°C) dan campuran diaduk selama 25 jam. Senyawa hasil reaksi (BNBP) diperoleh melalui pengendapan dengan cara menuangkan campuran reaksi yang ada pada labu ke dalam aquades dingin.

Endapan disaring, dicuci dengan aquades panas dan metanol kemudian dikeringkan selama 2 jam menggunakan vakum evaporator pada 78°C. Ligan BNBP kemudian dikarakterisasi dengan spektroskopi ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, dan spektrofotometer FTIR.

3.2.2 Penentuan Perbandingan Mol logam dan Ligan

Pada tahap penentuan perbandingan mol logam dan ligan, digunakan variasi perbandingan 1:1, 1:2 dan 1:3. Pada perbandingan mol logam dan ligan 1:1, ditimbang 0,043 gram logam dan 0,102 gram ligan. Pada perbandingan mol logam dan ligan 1:2, ditimbang 0,043 gram logam dan 0,204 gram ligan. Pada perbandingan 1:3, ditimbang 0,043 gram logam dan 0,305 gram ligan. Masing masing logam dan ligan dilarutkan dalam campuran 6 ml metanol dan 2 ml asetonitril hingga larut. Larutan logam dimasukkan ke dalam refluks pada suhu 70°C, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit larutan ligan. Campuran direaksikan selama 24 jam. Selanjutnya, larutan disaring dan diletakkan ke dalam beberapa vial kecil. Larutan didiamkan selama 7 hari hingga terbentuk padatan kristal. Kristal yang terbentuk dikeringkan di dalam desikator vakum kemudian dilarutkan ke dalam DMF untuk dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis. Pada masing-masing variasi perbandingan logam dan ligan akan dihasilkan panjang gelombang maksimum dan absorbansi maksimum. Larutan dengan panjang gelombang maksimum tertinggi dan absorbansi tertinggi akan dijadikan sebagai acuan komposisi perbandingan logam dan ligan pada tahap sintesis kompleks selanjutnya.

3.2.3 Sintesis Kompleks dari Ion Logam Cu(II) dengan Ligan BNPB

Pada tahap sintesis kompleks, perbandingan mol logam dan ligan yang digunakan adalah 1:2. Sebanyak 0,042 gram $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dimasukkan ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan 6 ml metanol dan 2 ml asetonitril, diaduk hingga larut. 0,203 gram BNPB dilarutkan dalam 6 ml metanol dan 2 ml asetonitril dan diaduk hingga larut. Larutan logam dimasukkan ke dalam refluks pada suhu 70°C , kemudian ditambahkan larutan ligan BNPB sedikit demi sedikit dengan pipet tetes. Campuran direaksikan selama 24 jam. Larutan kemudian disaring dan diletakkan ke dalam beberapa vial kecil. Larutan didiamkan selama 7 hari hingga terbentuk padatan kristal. Kristal yang terbentuk dikeringkan di dalam desikator kemudian dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*), AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*), C, H, N analyzer dan TGA (*Thermo Gravimetric Analyzer*).

3.3 Prosedur Karakterisasi

3.3.1 Analisis ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR

Pada karakterisasi struktur ligan dengan ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR digunakan pelarut DMSO untuk analisis. Analisis spektroskopi ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR digunakan untuk karakterisasi proton dan atom karbon pada ligan.

3.3.2 Spektrofotometer UV-Visible

Senyawa ligan BNPB, logam $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan kompleks Cu(II)-BNPB masing-masing dilarutkan dalam DMF dengan konsentrasi 0,01 M dan ditentukan spektrumnya pada kisaran panjang gelombang 200-500 nm.

3.3.3 Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Penentuan struktur senyawa kompleks dilakukan dengan mengamati gugus fungsi pada spektrum inframerah. Sebanyak 1 mg sampel dicampur dengan 10 mg KBr, kemudian dimasukkan dalam press holder, ditekan hingga pelet setipis mungkin (0,01 mm – 0,05 mm). Sampel diletakkan pada permukaan holder kemudian dimasukkan ke dalam compartment dan pengamatan spektrum inframerah dapat dilakukan.

3.3.4 Analisis Unsur C, H, N dengan *Elemental Analyzer*

Alat untuk analisis mikrounsur C, H, N distandarisasi dengan *L-Cistina Standard* ($C_6H_{12}N_2O_4S_2$, C = 29,99 %, H = 5,03 %, N = 11,66 % S= 26,69 % dan O = 26,63 %) sebelum digunakan. Sebanyak 2,83 mg sampel ditempatkan dalam aluminium foil, kemudian ditambahkan vanadium oksida untuk menyempurnakan reaksi oksidasi. Sampel tersebut dimasukkan dalam pelat berlubang untuk dilakukan pembakaran dengan gas oksigen. Selanjutnya alat mikrounsur dijalankan dan komposisi C, H dan N yang terkandung pada senyawa terbaca pada layar monitor komputer.

3.3.5 Penentuan Konsentrasi Ion Logam Cu(II) dalam Senyawa Kompleks dengan AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*)

Penentuan konsentrasi logam Cu(II) dilakukan dengan membuat larutan standart 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Larutan standar yang digunakan berasal dari larutan $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ dengan konsentrasi 1000 ppm dan 100 ppm. Larutan standart 1000 ppm dibuat dari 0,250 gram garam $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ dan 2,5 ml HCl 5 M, kemudian ditambah akuades hingga volume 250 ml. Larutan Cu standar 100 ppm diperoleh dengan pengambilan 10 ml larutan standar 1000 ppm kemudian diencerkan dengan akuades hingga volume 100 ml. Larutan standar dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dibuat dari 2, 4, 6, 8, dan 10 ml larutan standar 100 ppm. Masing-masing larutan standar dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, ditambahkan 1 ml HCl 5 M kemudian diencerkan hingga tanda batas. Setiap larutan standar tersebut diukur absorbansi pada panjang gelombang 324,8 nm. Data yang diperoleh dibuat kurva standar yaitu hubungan antara konsentrasi dengan absorbans.

Larutan sampel dibuat dari 0,02 gram senyawa kompleks yang dilarutkan dalam aquades dan 2,5 ml HCl 5 M. Selanjutnya, masing-masing 3 ml dari larutan sampel tersebut ditambah akuades dalam labu takar 50 ml hingga tanda batas. Larutan sampel hasil pengenceran diukur absorbansi dengan AAS pada panjang gelombang 324,8 nm.

3.3.6 Analisis dengan TGA (*Thermo Gravimetric Analyzer*)

Analisis TGA digunakan untuk menentukan kestabilan termal senyawa kompleks. Sampel ditimbang seberat 10 mg dan dimasukkan ke dalam holder. Selanjutnya sampel dipanaskan dengan laju 10°C/menit mulai dari suhu 0°C sampai 700°C di bawah atmosfer nitrogen.

3.4 Uji Bioaktivitas dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Pada metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) digunakan larva *Artemia salina*. Larva ditetaskan dari telur *Artemia salina*. Sebelum telur ditetaskan, sebuah alat dirangkai terdiri atas botol plastik yang telah diisi dengan air laut dan diberi aliran oksigen dengan aerator serta disinari lampu. Sebanyak 0,5 gram telur dimasukkan ke dalam botol yang telah dirangkai tersebut. Telur ditetaskan selama 48 jam hingga menjadi larva. Sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* dimasukkan ke dalam *micro well plate* dikali banyaknya sampel uji. Larutan uji berupa ligan BNPB dan kompleks Cu(II)-BNBP masing-masing dibuat dengan konsentrasi 62,5, 125, 250, 500 dan 1000 mg/l. Masing-masing larutan uji yang telah dibuat dimasukkan *micro well plate* yang telah berisi *Artemia salina*. Masing-masing larutan uji didiamkan selama 24 jam, sehingga terdapat *Artemia salina* yang mati (tidak bergerak sama sekali). Jumlah *Artemia salina* yang mati dapat diamati secara visual.

Jumlah larva yang mati dihitung rata-rata dalam tiga kali replikasi. Selanjutnya dihitung persentase kematian dan log konsentrasi, lalu dimasukkan ke dalam Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Persentase kematian dalam variasi konsentrasi larutan uji

Konsentrasi (K)	Log K	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian

Konsentrasi (K)	Log K	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian

Hasil perhitungan persentase kematian dan log konsentrasi perlakuan dibuat sebuah grafik, sehingga dihasilkan persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier $y=ax+b$ digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} . Y adalah persentase kematian sedangkan x adalah log konsentrasi. Dengan disubstitusi angka 50 pada y, akan diperoleh nilai x (log konsentrasi), sehingga dapat dihitung antilog x yang merupakan nilai konsentrasi kematian sel sebesar 50% atau LC_{50} .

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ligan 2,6-Bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP) disintesis dan dikarakterisasi dengan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*), spektroskopi ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR. Ligan yang telah disintesis kemudian dikomplekskan dengan ion logam Cu(II). Senyawa kompleks yang dihasilkan ditentukan rumus molekulnya dengan AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*), FTIR (*Fourier Transform Infra Red*), C, H, N analyzer, dan TGA (*Thermo Gravimetric Analyzer*). Kompleks yang dihasilkan diuji bioaktivitasnya dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

4.1 Sintesis dan Karakterisasi Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNBP)

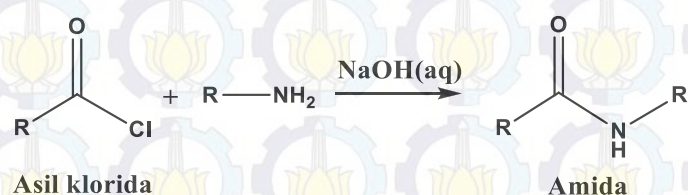
Ligan BNBP disintesis sesuai dengan prosedur yang telah dilakukan oleh Taremi dkk. (2010) dengan beberapa perubahan suhu reaksi. Reaktan yang digunakan dalam reaksi adalah 2,6-diaminopiridin (padatan hijau tua) dan 4-nitrobenzoil klorida (kuning), sedangkan pelarut yang digunakan adalah N-metilpirolidon (NMP) (tidak berwarna) dan propilen oksida (tidak berwarna).

Reaksi pembentukan ligan dikondisikan pada suhu 0°C selama 1 jam. Setelah itu, suhu reaksi dinaikkan dan dipertahankan pada suhu 22°C . Hal ini disebabkan di atas suhu tersebut ligan BNBP tidak terbentuk. Reaksi pembentukan ligan dilakukan di bawah kondisi atmosfer N_2 . Gas N_2 bersifat inert sehingga tidak dapat bereaksi dengan reaktan. Selain itu, gas N_2 dapat mencegah adanya kontaminasi gas lain seperti O_2 selama reaksi berlangsung. Proses reaksi di dalam refluks berlangsung selama 25 jam.

Tahap selanjutnya yaitu pengendapan dan pencucian. Hasil reaksi berbentuk larutan, dituang dan diendapkan dengan aquades dingin. Aquades dingin berfungsi untuk membentuk larutan menjadi agregat. Agregat atau padatan dicuci dengan aquades panas untuk mengaktifkan pengotor sehingga mudah larut. Selanjutnya, padatan dicuci dengan metanol untuk menghilangkan kadar air.

Padatan yang masih basah diuapkan dengan vakum evaporator pada suhu 78°C untuk menguapkan metanol yang masih tersisa. Padatan yang diperoleh kemudian direkristalisasi menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut yang sesuai untuk rekristalisasi BNPB adalah asetonitril. Rekristalisasi dilakukan pada suhu 70°C. Sebelum direkristalisasi, padatan berwarna hijau tua, namun setelah direkristalisasi padatan menjadi kuning kehijauan. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengotor pada BNPB yang larut bersama pelarut. Padatan BNPB kemudian dikeringkan dan dikarakterisasi lebih lanjut.

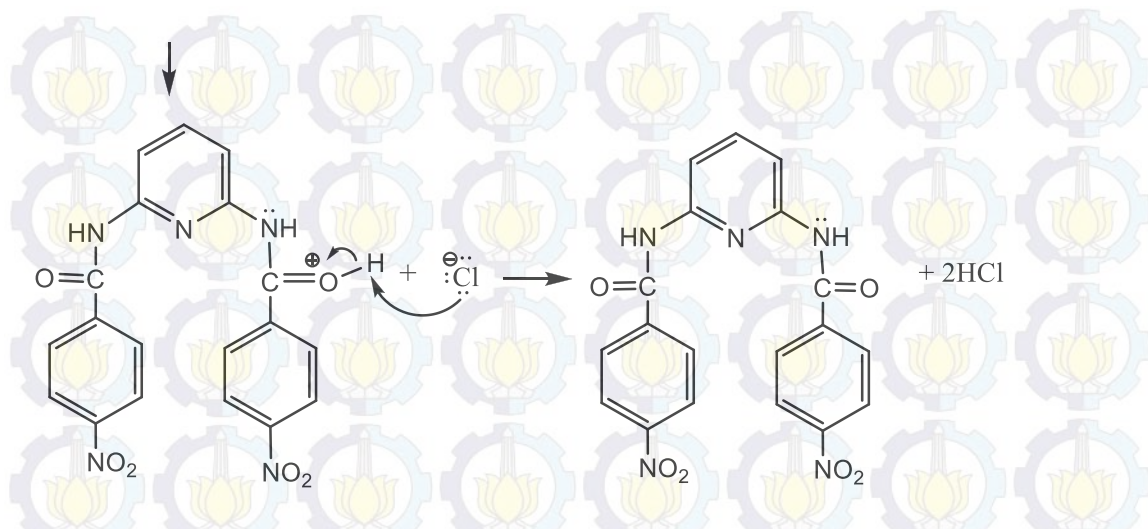
Perbandingan mol 2,6-diaminopiridin dan 4-nitrobenzoil klorida yang digunakan pada sintesis ligan BNPB adalah 3:1. Hal ini bertujuan untuk mengikatkan 2 molekul 4-nitrobenzoil klorida dengan gugus amina yang terletak pada kedua sisi molekul 2,6-diaminopiridin. Reaksi pembentukan amida pada ligan BNPB mengikuti metode Schotten-Baumann yang ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Reaksi umum Schotten-Baumann

Schotten-Baumann merupakan reaksi pembentukan amida yang melibatkan reaksi benzoilasi dari senyawa yang mempunyai hidrogen aktif seperti fenol, amina primer dan amina sekunder. Umumnya pada reaksi Schotten-Baumann digunakan katalis basa NaOH atau piridin. Namun, pada penelitian ini digunakan basa propilen oksida sebagai *scavenger* asam yaitu HCl yang terbentuk. Usulan mekanisme reaksi pembentukan ligan BNPB ditampilkan pada Gambar 4.2.





Gambar 4.2 Usulan mekanisme reaksi pembentukan ligan BNP

Menurut Taremi dkk. (2010), reaksi yang terjadi pada pembentukan ligan BNP adalah reaksi substitusi nukleofilik. Mekanisme reaksi pembentukan ligan BNP pada Gambar 4.2 dapat dijelaskan sebagai berikut. Reaksi awal yang terjadi adalah adisi nukleofilik pada karbonil. Atom karbon pada ujung suatu alkil halida mempunyai muatan parsial positif (δ^+) yang mudah diserang oleh nitrogen yang memiliki pasangan elektron dalam kulit luarnya (Fessenden dan Fessenden 1986). Elektron pada karbon bergerak menuju atom oksigen sehingga memutuskan ikatan rangkap C=O dan atom oksigen menjadi bermuatan parsial negatif (δ^-). Atom oksigen yang bermuatan parsial negatif (δ^-) menyerang proton pada gugus NH_2 . Proton pada gugus NH_2 tidak stabil karena atom nitrogen kekurangan elektron. Proton yang diserang oleh oksigen mudah dilepas membentuk gugus hidroksil (C–OH). Atom klorida pada gugus benzoil memiliki keelektronegatifan tinggi sehingga awan elektron lebih mudah tertarik ke arah klorida. Hal ini menyebabkan ikatan antara atom karbon dan klorida menjadi lemah dan atom klorida mudah dilepas. Atom karbon menjadi tidak stabil dan bermuatan parsial positif (δ^+). Elektron pada atom oksigen berpindah ke atom karbon membentuk karbonil (C=O–H). Atom oksigen menjadi bermuatan parsial positif (δ^+) sehingga atom hidrogen mudah lepas dan diserang oleh klorida membentuk HCl. Mekanisme reaksi yang sama terjadi untuk atom nitrogen pada sisi ke-dua gugus 2,6-diaminopiridin. Produk dari reaksi adalah 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin (BNP) dan produk samping adalah HCl.

Ligan BNPB yang dihasilkan pada sintesis ini berbentuk padatan dengan rendemen sebesar 84,54% dan berwarna kuning kecoklatan seperti pada Gambar 4.3. Rendemen yang dihasilkan lebih kecil jika dibandingkan pada penelitian sebelumnya yaitu sebesar 88,60% (Taremi dkk., 2010).



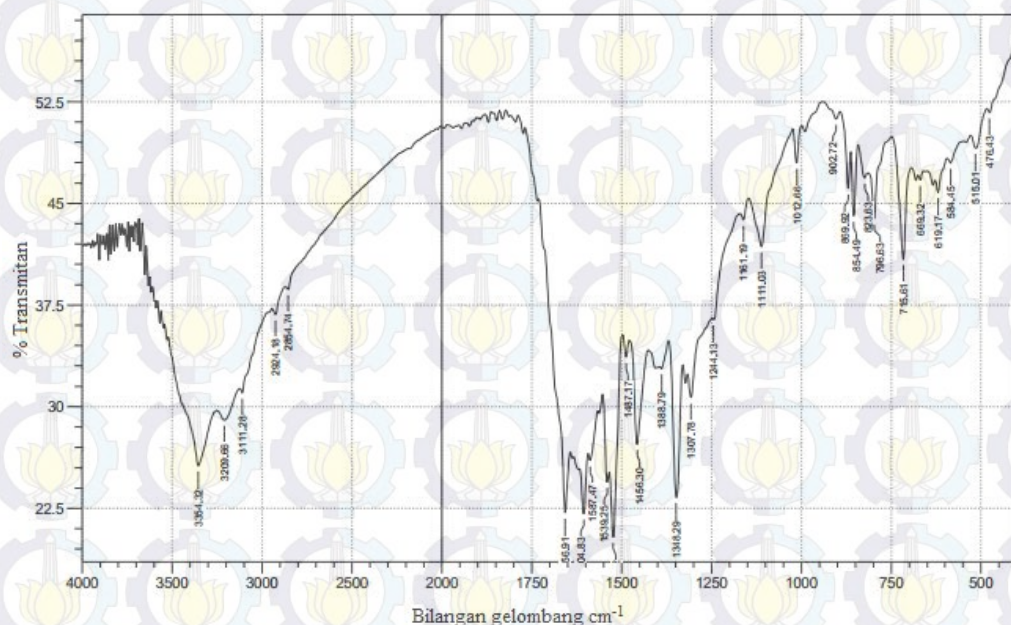
Gambar 4.3 Padatan ligan BNPB

Terbentuknya ligan BNPB pertama kali dibuktikan dengan uji kromatografi lapis tipis (KLT). Uji KLT digunakan untuk mengetahui kemurnian senyawa hasil sintesis dengan melihat ada tidaknya pengotor pada senyawa tersebut. Uji KLT pada ligan BNPB dilakukan menggunakan eluen kloroform dan DCM dengan perbandingan 1:2. Profil uji KLT ditunjukkan pada Gambar 4.4. Berdasarkan profil tersebut, ligan BNPB muncul dengan satu noda. Hal ini menunjukkan bahwa ligan BNPB telah terbentuk. Terbentuknya BNPB juga didukung dengan hasil uji titik leleh padatan BNPB sebesar 270-273°C. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Taremi dkk. (2010) bahwa BNPB memiliki titik leleh sebesar 273-275°C.



Gambar 4.4 Profil KLT ligan BNPB dalam eluen kloroform:DCM 1:2

Ligan BNPB selanjutnya dikarakterisasi dengan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) untuk diketahui gugus fungsional karakteristik yang terdapat pada senyawa tersebut. Berdasarkan hasil karakterisasi diperoleh spektrum seperti pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Spektrum FTIR ligan BNPB (2,6-bis(nitrobenzamido)piridin)

Berdasarkan spektrum FTIR di atas, terdapat beberapa puncak bilangan gelombang yang muncul dari ligan BNPB. Diantaranya, puncak pada bilangan gelombang $3209,66\text{ cm}^{-1}$ dan $716,33\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya vibrasi *stretching* dan *wagging* N-H amida sekunder. Adanya amida sekunder dapat mengindikasikan terbentuknya senyawa BNPB, dimana gugus karbonil terikat pada NH_2 . Vibrasi *stretching* C=O amida sekunder diamati pada bilangan gelombang $1656,91\text{ cm}^{-1}$. Vibrasi *stretching* C=C aromatis diamati pada bilangan gelombang $1458,58\text{ cm}^{-1}$. Vibrasi *stretching* N-O nitrat diamati pada bilangan gelombang $854,49\text{ cm}^{-1}$. Vibrasi *stretching* C=N piridin diamati pada bilangan gelombang $1604,83\text{ cm}^{-1}$. Perbandingan bilangan gelombang FTIR ligan BNPB sintesis dan BNPB pada penelitian sebelumnya (Ataei dan Taremi, 2011) dapat dilihat pada Tabel 4.1. Berdasarkan data pada tabel tersebut dapat dilihat bahwa

besar bilangan gelombang yang muncul pada ligan hasil sintesis dan ligan pada penelitian sebelumnya adalah sama. Hal ini menunjukkan bahwa ligan BNPB telah terbentuk.

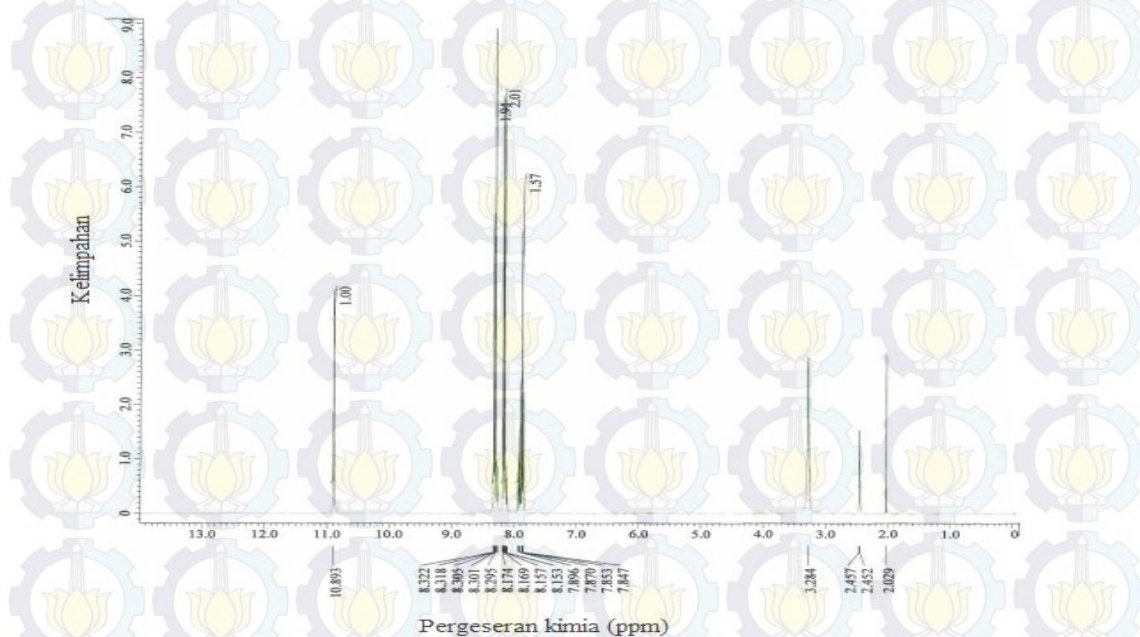
Tabel 4.1 Perbandingan bilangan gelombang FTIR ligan BNPB hasil sintesis dan penelitian sebelumnya

Bilangan gelombang (cm^{-1})		Vibrasi molekul
FTIR hasil sintesis	Referensi FTIR (Ataei dan Taremi, 2011)	
3354,32	3353,13	<i>Stretching</i> N-H amida
3111,28	3107,67	<i>Stretching</i> C-H aromatik
1656,91	1655,46	<i>Stretching</i> C=O amida
1587,47; 1604,83	1586,34; 1604,58	<i>Stretching</i> C=N piridin
1458,58	1456,3	<i>Stretching</i> C=C aromatik
1307,65; 1351,87	1307,78; 1348,29	<i>Stretching</i> C-N aromatik
869,56	869,92	<i>Stretching</i> N-O nitrat
716,33	715,61	<i>Wagging</i> N-H amida

Pada karakterisasi selanjutnya digunakan spektroskopi ^1H -NMR untuk mengetahui jumlah dan jenis proton yang terdapat pada ligan BNPB. Spektrum ^1H -NMR ligan BNPB dengan pelarut DMSO ditunjukkan pada Gambar 4.6. Berdasarkan spektrum ^1H -NMR tersebut, diperoleh data pergeseran kimia dari proton senyawa BNPB seperti pada Tabel 4.2. struktur BNPB dan kode proton ditampilkan pada Gambar 4.7.

Pada pergeseran kimia (δ_{H}) 10,89 ppm merupakan puncak singlet 2 proton dari gugus N-H amida (H1) dengan integrasi 1. Pada pergeseran kimia (δ_{H}) 8,31 ppm merupakan puncak doublet 4 proton dari gugus fenil yang dekat dengan gugus NO_2 (H2). Pada pergeseran kimia (δ_{H}) 8,17 ppm merupakan puncak doublet 4 proton dari gugus fenil yang dekat dengan gugus C=O (H3). Masing-masing integritas yang terbentuk adalah 1,91 dan 2,01. Hal ini berarti bahwa jumlah proton sejenis pada gugus fenil adalah dua kali jumlah proton pada gugus N-H amida. Pergeseran kimia proton N-H amida lebih besar daripada pergeseran kimia proton pada gugus fenil. Hal ini disebabkan gugus fenil memiliki atom-atom terkonjugasi sehingga distribusi awan elektron lebih besar dan menyebabkan inti beresonansi pada kuat medan magnet yang tinggi. Inti dengan kuat medan magnet

tinggi memiliki pergeseran kimia yang rendah (dekat dengan TMS). Pergeseran kimia (δ_H) pada 7,89 ppm merupakan puncak doublet dari 2 proton piridin (H4). Pergeseran kimia (δ_H) pada 7,87 ppm merupakan puncak triplet dari proton piridin (H5).

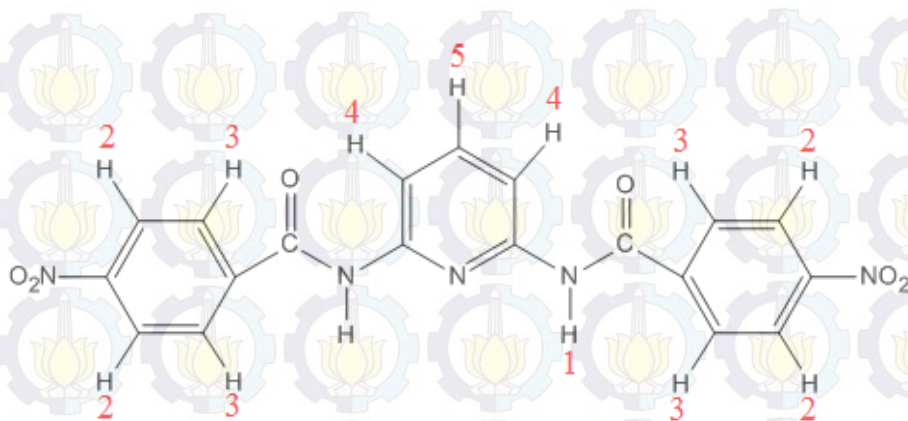


Gambar 4.6 Spektrum ^1H -NMR ligan BNP

Pergeseran kimia ^1H -NMR ligan BNP hasil sintesis dan BNP pada penelitian sebelumnya ditampilkan pada Tabel 4.2. Dari tabel tersebut, data pergeseran kimia keduanya hampir sama. Hal ini menunjukkan bahwa ligan BNP telah terbentuk.

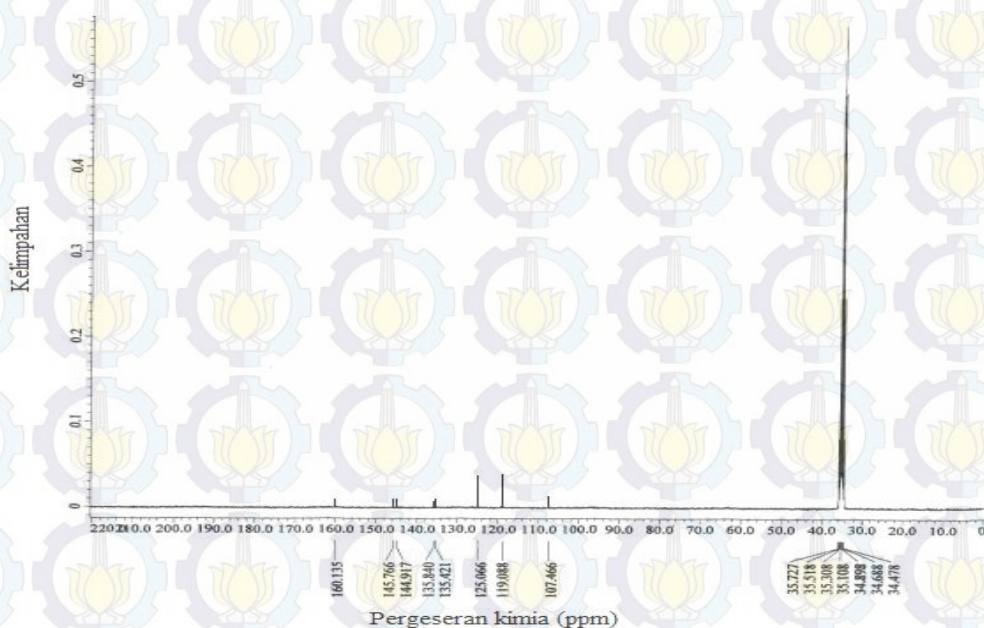
Tabel 4.2 Perbandingan pergeseran kimia ^1H -NMR ligan BNP hasil sintesis dan penelitian sebelumnya

Pergeseran kimia ^1H -NMR (δ_H) (ppm)		Kode proton
BNP hasil sintesis	Referensi BNP (Taremi dkk., 2010)	
10,89	10,97	H1
8,31	8,32	H2
8,17	8,15	H3
7,89-7,87	7,89-7,87	H4, H5



Gambar 4.7 Struktur BNP dan kode jenis proton ^1H -NMR

Karakterisasi selanjutnya digunakan spektroskopi ^{13}C -NMR dengan pelarut DMSO. Karakterisasi ini bertujuan untuk mengetahui jumlah dan jenis karbon pada ligan BNP. Spektrum ^{13}C -NMR ligan BNP dapat dilihat pada Gambar 4.8.



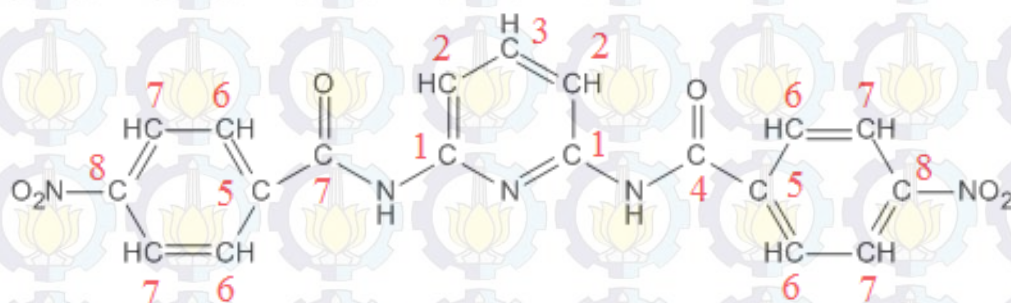
Gambar 4.8 Spektrum ^{13}C -NMR ligan BNP

Berdasarkan spektrum ^{13}C -NMR tersebut, dapat diamati bahwa terdapat delapan puncak karbon pada ligan BNP hasil sintesis. Delapan puncak karbon

tersebut ditunjukkan pada struktur BNPB pada Tabel 4.3. Kedelapan karbon tersebut adalah tiga karbon sejenis pada molekul piridin, satu karbon pada gugus C=O dan empat karbon sejenis pada molekul benzena. Data pergeseran kimia ^{13}C -NMR ligan BNPB hasil sintesis dan jenis karbon dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.9.

Tabel 4.3 Pergeseran kimia ^{13}C -NMR ligan BNPB

Pergeseran kimia ^{13}C -NMR (δ_{C}) (ppm)	Kode karbon
145,76	C1
107,44	C2
135,42	C3
160,13	C4
135,84	C5
125,06	C6
119,00	C7
144,91	C8



Gambar 4.9 Struktur BNPB dan kode jenis karbon ^{13}C -NMR

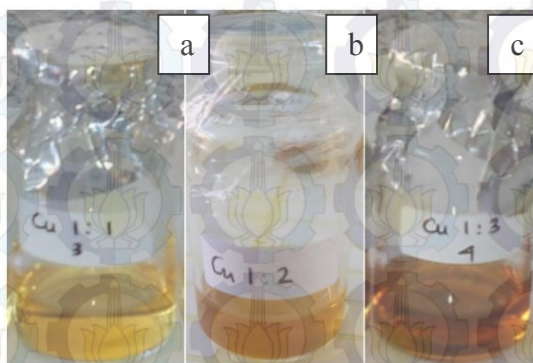
Berdasarkan Tabel 4.3 dan Gambar 4.9, pada pergeseran kimia (δ_{C}) 145,76 ppm, 107,44 ppm dan 135,42 ppm merupakan puncak karbon gugus piridin. Pada pergeseran kimia (δ_{C}) 160,13 ppm menunjukkan puncak karbon gugus karbonil. Pada pergeseran kimia (δ_{C}) 135,84 ppm, 125,06 ppm, 119,00 ppm dan 144,91 ppm menunjukkan puncak karbon gugus benzena.

4.2 Sintesis dan Karakterisasi Kompleks Cu(II)-BNBP

4.2.1 Penentuan Perbandingan Mol Logam dan Ligan

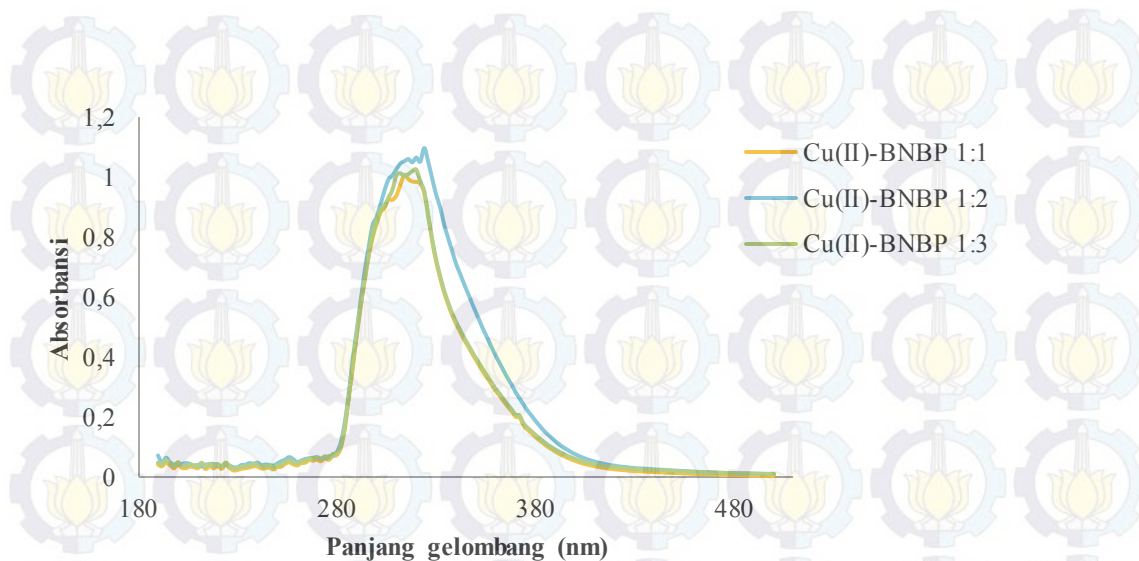
Tahap penentuan perbandingan mol logam dan ligan, dilakukan untuk mendapatkan perbandingan mol logam dan ligan sebagai acuan untuk tahap sintesis kompleks.

Untuk menentukan perbandingan mol logam dan ligan, digunakan variasi perbandingan mol logam dan ligan 1:1, 1:2 dan 1:3. Masing-masing larutan tersebut direaksikan menggunakan pelarut asetonitril dan metanol dengan metode refluks selama 24 jam pada suhu 70°C. Masing-masing larutan kompleks yang dihasilkan diletakkan pada vial kecil untuk diperoleh padatan. Gambar ketiga larutan kompleks dapat dilihat pada Gambar 4.10. Pada gambar tersebut, terlihat bahwa larutan kompleks 1:1 berwarna kuning kecoklatan, larutan kompleks 1:2 berwarna coklat kekuningan, dan larutan kompleks 1:3 berwarna coklat. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar mol ligan yang digunakan, warna larutan kompleks semakin gelap. Hal ini berarti bahwa jumlah ligan mempengaruhi pembentukan warna larutan kompleks.



Gambar 4.10 Larutan kompleks dengan perbandingan mol logam dan ligan: a. 1:1, b. 1:2 dan c. 1:3

Larutan kompleks yang dihasilkan didiamkan selama 7 hari untuk diperoleh padatan. Masing-masing padatan kompleks yang dihasilkan dilarutkan dalam DMF dan diukur panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis. Grafik panjang gelombang maksimum larutan kompleks dengan perbandingan mol 1:1, 1:2 dan 1:3 dapat dilihat pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Panjang gelombang maksimum larutan kompleks Cu(II)-BNBP (perbandingan mol) 1:1, 1:2 dan 1:3 dengan pelarut DMF

Berdasarkan gambar tersebut, dapat diamati bahwa terdapat panjang gelombang maksimum tertinggi pada salah satu larutan kompleks. Data panjang gelombang maksimum dan absorbansi dari ketiga larutan kompleks dirangkum dalam Tabel 4.4. Dari tabel tersebut dapat diamati bahwa panjang gelombang maksimum larutan kompleks Cu(II)-BNBP dengan perbandingan mol 1:1, 1:2 dan 1:3 masing-masing adalah 314 nm, 324 nm dan 320 nm. Absorbansi yang diperoleh masing-masing adalah 1,006, 1,100 dan 1,025. Pada penelitian Saheb dkk. (2013) disebutkan bahwa kompleks Cu(II)(1-(N-salisilidinimino)-2-(N,Nmetil)-aminoetan)(NCS) memiliki panjang gelombang maksimum pada kisaran 350-390 nm.

Tabel 4.4 Absorbansi dan panjang gelombang maksimum kompleks Cu(II)-BNBP

Perbandingan	Absorbansi	Panjang gelombang maksimum (nm)
1:1	1,006	314
1:2	1,100	324
1:3	1,025	320

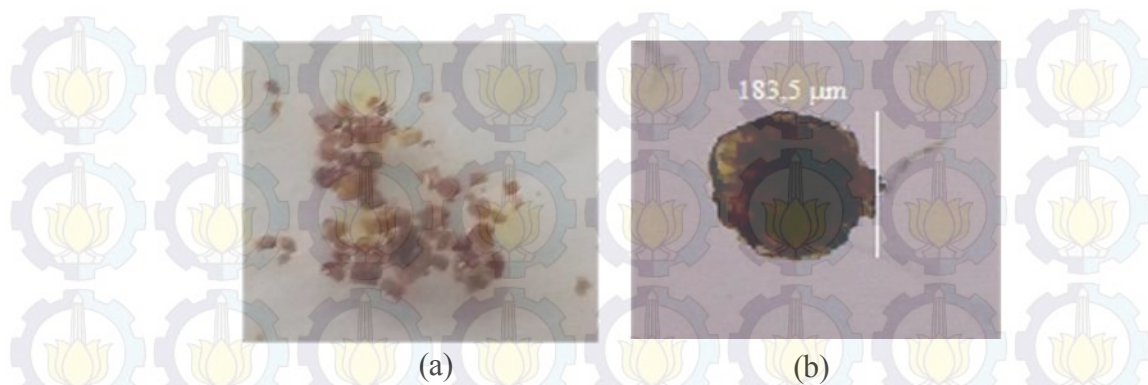
Berdasarkan Tabel 4.4, panjang gelombang maksimum tertinggi terdapat pada kompleks Cu(II)-BNBP dengan perbandingan mol 1:2 yaitu sebesar 324 nm

dengan absorbansi 1,100. Hasil perbandingan mol logam dan ligan 1:2 dijadikan sebagai komposisi acuan pada tahap sintesis kompleks Cu(II)-BNBP.

4.2.2 Sintesis Kompleks Cu(II)-BNBP

Pada tahap sintesis kompleks, langkah awal yang dilakukan adalah penentuan pelarut yang sesuai. Pelarut yang digunakan diantaranya metanol, etanol, etil asetat, kloroform, asetonitril, diklorometan, N-heksan, dimetilsulfoksida (DMSO) dan dimetil formamida (DMF). Pelarut yang dipilih adalah pelarut yang dapat melarutkan masing-masing ligan BNBP dan $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Berdasarkan uji kelarutan tersebut, terdapat beberapa pelarut yang sesuai yaitu DMSO, DMF dan campuran asetonitril dan metanol. Pelarut-pelarut tersebut termasuk pelarut polar. Hal ini menunjukkan bahwa ligan BNBP merupakan senyawa yang bersifat polar. Adapun pelarut yang digunakan untuk sintesis kompleks selanjutnya adalah campuran asetonitril dan metanol.

Ligan BNBP dilarutkan dalam campuran metanol dan asetonitril, campuran yang dihasilkan berwarna kuning kecoklatan. Logam $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam campuran metanol dan asetonitril, warna yang dihasilkan adalah hijau. Perbandingan mol yang digunakan adalah 1:2 sesuai dengan hasil penentuan perbandingan mol logam dan ligan pada tahap sebelumnya. Larutan logam dan larutan ligan direaksikan di dalam refluks pada suhu 70°C selama 24 jam. Suhu 70°C merupakan suhu di bawah titik didih asetonitril (83°C) dan di atas titik didih metanol (67°C). Larutan kompleks diletakkan ke dalam beberapa vial kecil bertujuan untuk mendapatkan padatan kompleks lebih cepat. Larutan kompleks didiamkan selama 7 hari untuk diperoleh padatan. Kompleks Cu(II)-BNBP yang dihasilkan berwarna coklat kekuningan dan berbentuk padatan kristalin dengan rendemen sebesar 48,94%. Perhitungan rendemen kompleks terdapat pada lampiran B. Gambar visual padatan kristalin kompleks tanpa perbesaran dan dengan perbesaran 12 kali dapat dilihat pada Gambar 4.12. Pada perbesaran 12 kali, panjang satuan kristalin kompleks adalah $183,5\mu\text{m}$.

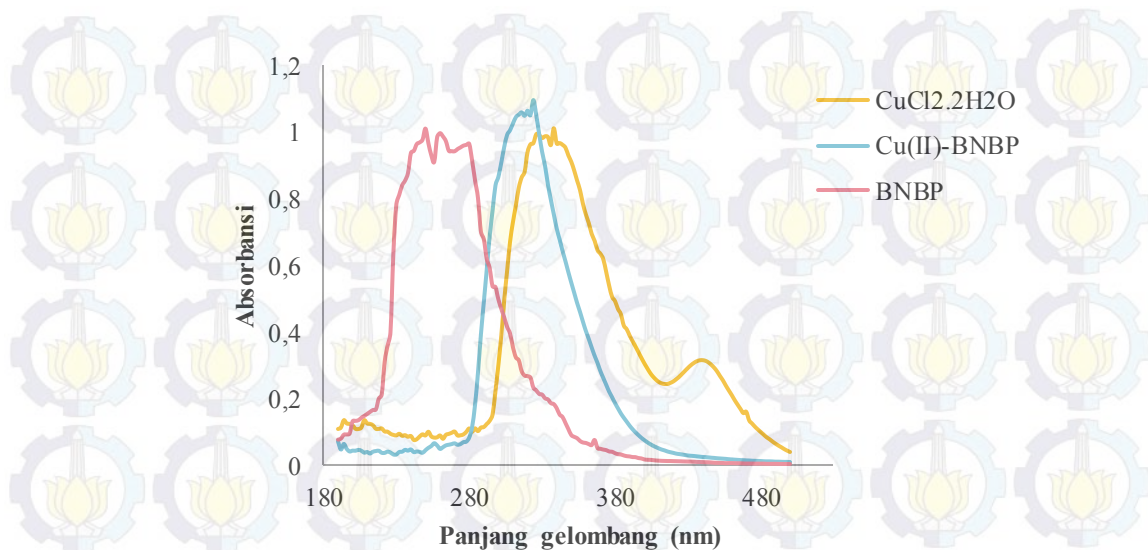


Gambar 4.12 (a) Kompleks Cu(II)-BNBP tanpa perbesaran (b) Foto mikroskop kompleks Cu(II)-BNBP perbesaran 12 kali

Padatan kristalin kompleks Cu(II)-BNBP kemudian diuji kelarutannya dengan beberapa pelarut. Pelarut yang digunakan adalah kloroform, metanol, asetonitril, n-heksan, etil asetat, diklorometan, dimetilformamida (DMF) dan dimetilsulfoksida (DMSO). Hasil dari uji kelarutan tersebut kompleks Cu(II)-BNBP larut sempurna dalam pelarut DMF dan DMSO. Hal ini menunjukkan bahwa kompleks Cu(II)-BNBP bersifat polar.

4.2.3 Karakterisasi UV-Vis Logam $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Ligan BNPB dan Kompleks Cu(II)-BNBP

Pada karakterisasi selanjutnya digunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui perubahan panjang gelombang maksimum pada kompleks, logam dan ligan. Hasil grafik panjang gelombang maksimum dengan pelarut DMF (dimetil formamid) ketiga larutan tersebut ditampilkan pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13 Grafik panjang gelombang maksimum larutan logam $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, kompleks Cu(II)-BNBP dan ligan BNPB

Berdasarkan grafik tersebut, diperoleh data perbedaan panjang gelombang maksimum seperti pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Panjang gelombang maksimum kompleks

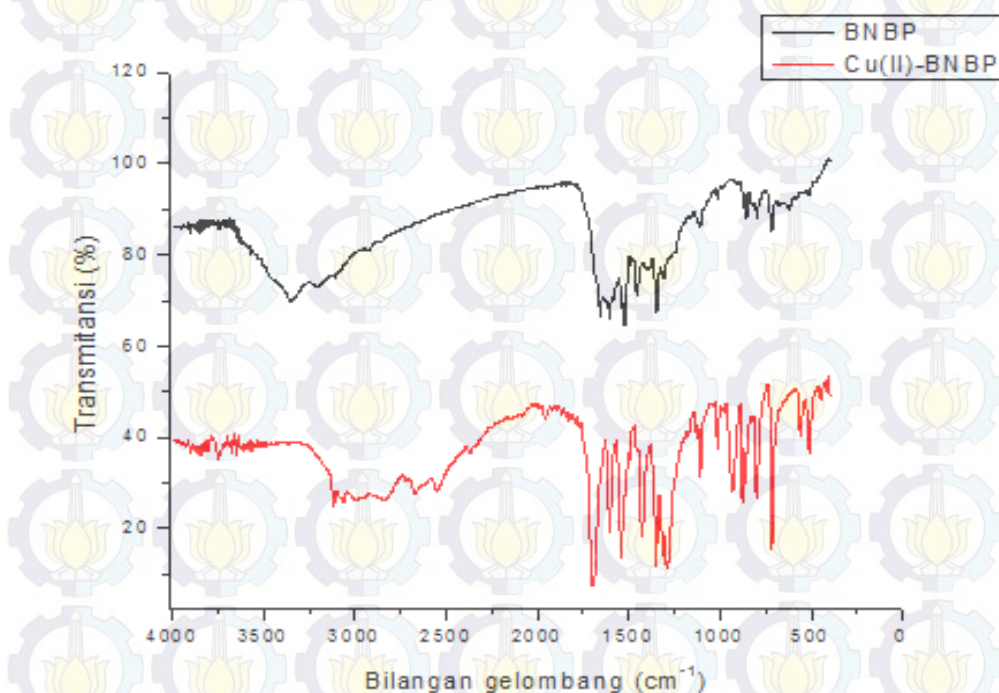
Sampel	Panjang gelombang maksimum (nm)
BNBP	250
$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	338
Cu(II)-BNBP	324

Berdasarkan Tabel 4.5 dapat diamati bahwa terjadi pergeseran panjang gelombang maksimum dari ligan BNPB ke kompleks Cu(II)-BNBP yaitu 250 nm menjadi 324 nm. Hal ini menunjukkan bahwa kompleks Cu(II)-BNBP telah terbentuk. Perubahan panjang gelombang maksimum ke arah yang lebih besar disebabkan adanya transisi d-d logam yang diakibatkan transfer muatan dari ligan ke logam (*Ligand Metal Charge Transfer*) (LMCT). Selain itu, dapat diamati bahwa panjang gelombang maksimum logam kompleks Cu(II)-BNBP (324 nm) lebih kecil jika dibandingkan dengan panjang gelombang maksimum logam $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (338 nm). Data ini juga mendukung terbentuknya kompleks tersebut,

sebagaimana penelitian Nurvika dkk. (2013) bahwa panjang gelombang maksimum logam kompleks $\text{Cu(II)-C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ dan Cu(II)-EDTA bergeser ke arah panjang gelombang yang lebih kecil dibandingkan dengan logam $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

4.2.4 Karakterisasi FTIR Kompleks Cu(II)-BNBP

Karakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR digunakan untuk mengetahui adanya gugus fungsi dalam kompleks dan ikatan baru yang terbentuk antara logam dan ligan. Perbandingan spektrum FTIR ligan dan kompleks terdapat pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14 Perbandingan spektrum FTIR kompleks Cu(II)-BNBP dan ligan BNBP

Data perbandingan bilangan gelombang ligan BNBP dan kompleks Cu(II)-BNBP disajikan pada Tabel 4.6. Berdasarkan hasil data tersebut, dapat dianalisis bahwa terdapat puncak baru yang muncul pada bilangan gelombang $420,5 \text{ cm}^{-1}$. Puncak tersebut diamati sebagai vibrasi logam dan ligan. Hal ini sesuai dengan penelitian Pothiraj dkk. (2012) bahwa puncak baru kompleks yang menunjukkan

ikatan logam dan ligan (Cu-N) muncul pada bilangan gelombang 423 cm^{-1} . Bilangan gelombang vibrasi *stretching* N-H amida ligan BNPB pada 3353 cm^{-1} tidak muncul pada spektrum kompleks. Hal ini dapat diprediksi bahwa gugus N-H amida berkoordinasi dengan ion logam Cu(II). Pernyataan ini didukung oleh adanya pergeseran bilangan gelombang vibrasi *stretching* C-N amida dari 1244,13 cm^{-1} menjadi 1176,62 cm^{-1} pada kompleks. Pergeseran tersebut menunjukkan bahwa ikatan C-N semakin lemah dikarenakan elektron bebas pada N berkoordinasi dan terdorong ke arah Cu(II). Meskipun demikian, atom H masih berikatan dengan atom N ditunjukkan dengan adanya vibrasi *wagging* N-H amida pada bilangan gelombang 715,61 cm^{-1} yang tidak mengalami perubahan.

Tabel 4.6 Perbandingan bilangan gelombang FTIR kompleks Cu(II)-BNBP dan ligan BNPB

Frekuensi vibrasi (cm^{-1})		Vibrasi molekul
BNBP	Cu(II)-BNBP	
3353,00	-	<i>Stretching</i> NH amida
3111,28	3115,14	<i>Stretching</i> NH overtone CN
1244,13	1176,62	<i>Stretching</i> C-N amida
715,61	715,61	<i>Wagging</i> N-H amida
-	420,50	Cu-N

4.2.5 Penentuan Kadar Unsur C, H, N dalam Kompleks

Pada penentuan kadar unsur C, H, N dalam kompleks digunakan alat *elemental analyzer*. Dari alat ini diperoleh data komposisi relatif (secara eksperimen) unsur karbon, hidrogen dan nitrogen dalam senyawa kompleks. Adapun kadar yang diperoleh adalah unsur C sebesar 48,169%, unsur H sebesar 2,642% dan unsur N sebesar 14,651%. Berdasarkan data tersebut dihitung persentase kadar masing-masing unsur secara teori dari beberapa struktur kompleks yang mungkin terbentuk. Hasil perhitungan kadar unsur secara teoritis yang mendekati hasil pengukuran secara eksperimen merupakan hasil prediksi rumus molekul senyawa kompleks. Hasil perhitungan kadar unsur C, H, N dalam kompleks secara eksperimen dan teori ditampilkan pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Kadar unsur C, H, N dalam kompleks secara eksperimen dan teoritis

Rumus molekul	% C	%H	%N
Sampel (eksperimen)	48,169	2,642	14,651
$[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{Cl})(\text{H}_2\text{O})].\text{Cl}$	48,980	3,008	15,038
$[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{H}_2\text{O})_2].\text{Cl}_2$	46,412	2,850	14,249
$[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{Cl})_2]$	48,076	2,741	14,760

L = 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin

Berdasarkan hasil perhitungan secara teori seperti pada Tabel 4.7, diperoleh kadar unsur C, H dan N yang hampir mendekati dengan hasil eksperimen. Berdasarkan data tersebut dihasilkan rumus molekul kompleks $[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{Cl})_2]$. Perhitungan kadar C, H, N secara teoritis dan eksperimen terdapat pada Lampiran G.

4.2.6 Analisis AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*)

Analisis menggunakan AAS bertujuan untuk mengetahui kadar ion logam Cu(II) dalam kompleks Cu(II)-BNBP. Kadar ion logam Cu(II) yang diperoleh kemudian disesuaikan dengan prediksi rumus molekul hasil analisis unsur C, H, N. Data absorbansi Ion logam Cu(II) pada kompleks ditunjukkan pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Absorbansi ion logam Cu(II) dalam larutan kompleks

Sampel	Konsentrasi (mg/l)	Absorbansi
kompleks	0,154	0,011

Berdasarkan data absorbansi dan konsentrasi kompleks pada Tabel 4.8, dapat ditentukan kadar ion logam Cu(II) dalam kompleks Cu(II)-BNBP. Perbandingan kadar ion logam Cu(II) secara teori dan eksperimen dapat dilihat pada Tabel 4.9. Perhitungan kadar ion logam pada kompleks secara teori dan eksperimen disajikan pada Lampiran H.

Tabel 4.9 Kadar unsur C, H, N dan Cu secara eksperimen dan teoritis

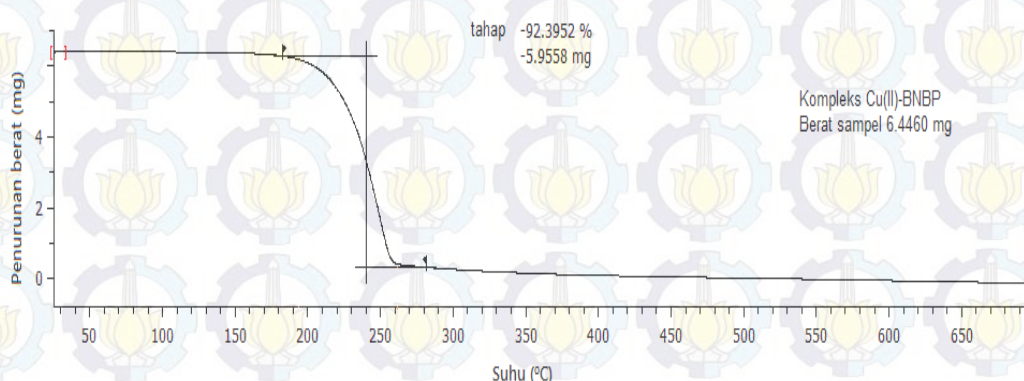
Rumus molekul	% C	%H	%N	%Cu
Sampel (eksperimen)	48,169	2,742	14,651	6,695
$[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{Cl})(\text{H}_2\text{O})].\text{Cl}$	48,980	3,008	15,038	6,821
$[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{H}_2\text{O})_2].\text{Cl}_2$	46,412	2,850	14,249	6,463
$[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{Cl})_2]$	48,076	2,741	14,760	6,695

L = 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin

Berdasarkan Tabel 4.9 dapat dilihat bahwa kadar ion logam Cu(II) dalam kompleks yang mendekati data eksperimen adalah kompleks dengan rumus molekul $[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{Cl})_2]$. Hasil ini sesuai dengan hasil prediksi pada analisis C, H, N sebelumnya.

4.2.7 Analisis TGA (*Thermo Gravimetric Analyzer*)

Analisis TGA pada penelitian ini dilakukan untuk mendukung formula kompleks yang telah diprediksi pada analisis CHN dan AAS. Pada penentuan rumus molekul kompleks, termogravimetri dapat memberikan informasi spesi dari kompleks yang terdekomposisi ketika terjadi pemanasan. Analisis termogravimetri kompleks Cu(II)-BNBP dilakukan pada suhu 20-700°C dengan berat sampel kompleks sebesar 6,446 mg.



Gambar 4.15 Kurva TGA kompleks Cu(II)-BNBP

Berdasarkan kurva TGA kompleks pada Gambar 4.15 dapat dilihat bahwa terjadi satu tahap dekomposisi pada kompleks. Penurunan berat sebesar

92,395 % terjadi pada suhu 235,86 - 271,34°C menunjukkan adanya dekomposisi kompleks yang terdiri atas 2 molekul ligan BNPB dan 2 molekul Cl. Hasil ini sesuai dengan berat teoritis bahwa pada penurunan berat sebesar 93,305% merupakan dekomposisi $(C_{19}H_{13}N_5O_6)_2(Cl)_2$. Pada penelitian Swastika dan Martak (2012) molekul Cl dan ligan feniletilamin terdekomposisi dari kompleks $[Cu(II)-(2\text{-feniletilamin})_2(H_2O)_2]Cl_2$ pada suhu 230°C. Residu sebesar 7,605% (secara teori 6,695%) dapat diprediksi merupakan Cu, seperti pada penelitian Kukovec dkk., (2012) bahwa CuO merupakan residu akhir dari kompleks $[Cu(6\text{-hidroksipikolinat})_2(3\text{-pikolinat})_2]$. Perhitungan berat hilang teoritis terdapat pada Lampiran I. Data berat eksperimen dan teoritis dapat dilihat pada Tabel 4.10. Penurunan berat tidak terjadi pada suhu 75-147°C (Yousef dkk., 2015). Hal ini berarti kompleks tidak mengandung air kristal. Hal ini mendukung data prediksi rumus molekul kompleks pada analisis C, H, N dan AAS sebelumnya, yaitu $[Cu(L)_2(Cl)_2]$.

Tabel 4.10 Data penurunan berat eksperimen dan teoritis TGA kompleks

Suhu dekomposisi (°C)	Berat eksperimen (%)	Rumus kompleks	Berat teoritis (%)
0	100	$[Cu(C_{19}H_{13}N_5O_6)_2(Cl)_2]$	100
235,86 - 271,34	92,395	$(C_{19}H_{13}N_5O_6)_2(Cl)_2$	93,305

4.3 Uji Bioaktivitas Ligan BNPB dan Kompleks Cu(II)-BNBP

Pada penelitian ini uji bioaktivitas dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan larva *Artemia salina*. Uji BSLT adalah uji pendahuluan untuk menentukan sifat toksik suatu senyawa. Adapun klasifikasi tingkat toksisitas suatu ekstrak berdasarkan LC_{50} menurut Meyer dkk. (1982), yaitu kategori sangat tinggi (*highly toxic*) apabila mampu membunuh 50% larva pada konsentrasi 1–10 µg/ml, kategori sedang (*medium toxic*) pada konsentrasi 10–100 µg/ml, dan kategori rendah (*low toxic*) pada konsentrasi 100–1000 µg/ml.

Kematian larva dihitung secara manual setelah diinkubasi selama 24 jam. Persentase kematian larva *Artemia salina* oleh sampel uji dari ligan BNPB dan kompleks Cu(II)-BNBP disajikan pada Tabel 4.11 dan 4.12.

Tabel 4.11 Data kematian larva pada variasi konsentrasi larutan ligan BNPB

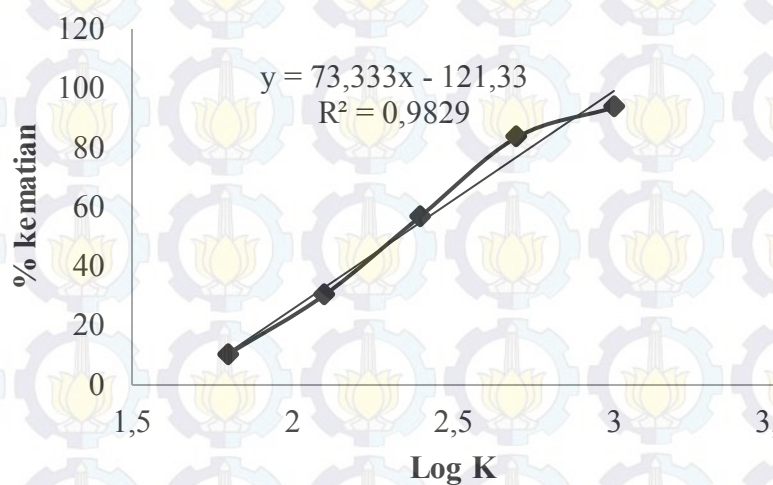
Konsentrasi (K)	Log K	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian
62,5	1,8	1	0,10	10,00
		1		
		1		
125	2,1	3	3,00	30,00
		3		
		3		
250	2,4	5	5,66	56,66
		6		
		6		
500	2,7	8	8,33	83,33
		9		
		8		
1000	3,0	9	9,33	93,33
		10		
		9		

Tabel 4.12 Data kematian larva pada variasi konsentrasi larutan kompleks Cu(II)-BNBP

Konsentrasi (K)	Log K	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian
62,5	1,8	2	0,30	30,00
		3		
		4		
125	2,1	5	5,33	53,33
		6		
		5		
250	2,4	8	7,33	73,33
		7		
		7		
500	2,7	8	8,66	86,67
		9		
		9		

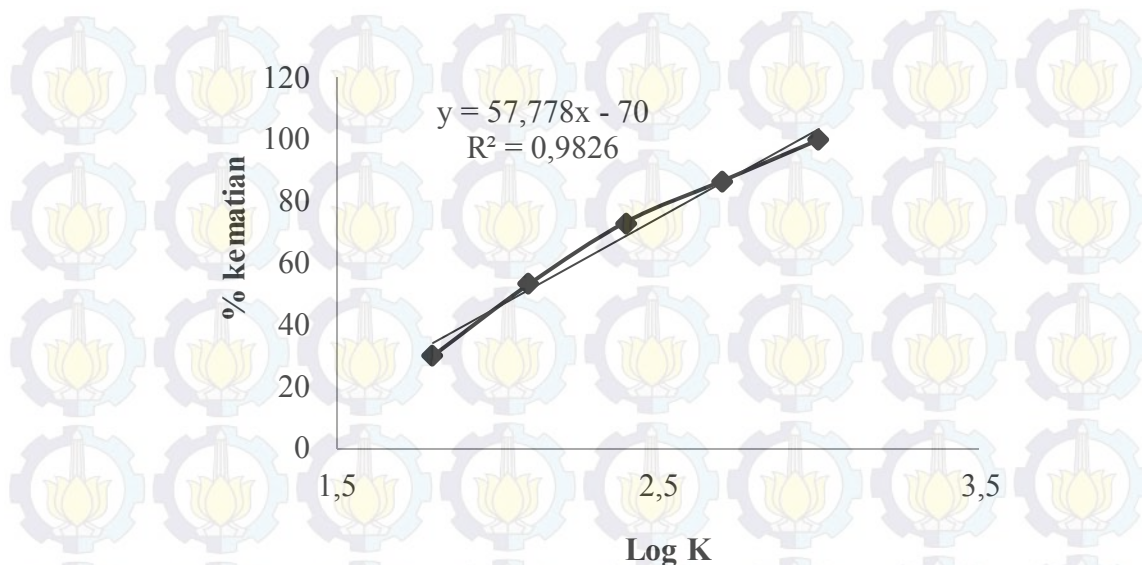
Konsentrasi (K)	Log K	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian
1000	3,0	10	10,00	100,00
		10		
		10		

Berdasarkan Tabel 4.11 dan 4.12, dapat diamati bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji, semakin tinggi pula persentase kematian. Data ini sesuai dengan penelitian Juniarti dkk. (2009). Hal ini menunjukkan bahwa toksisitas suatu senyawa dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa tersebut. Dari tabel tersebut dibuat kurva hubungan antara log konsentrasi sampel uji dan persentase kematian seperti pada Gambar 4.16 dan 4.17. Berdasarkan kurva tersebut diperoleh persamaan regresi linier, kemudian dihasilkan nilai LC_{50} . Perhitungan nilai LC_{50} ligan BNPB dan kompleks Cu(II)-BNBP disajikan pada Lampiran J.



Gambar 4.16 Kurva uji BSLT ligan BNPB

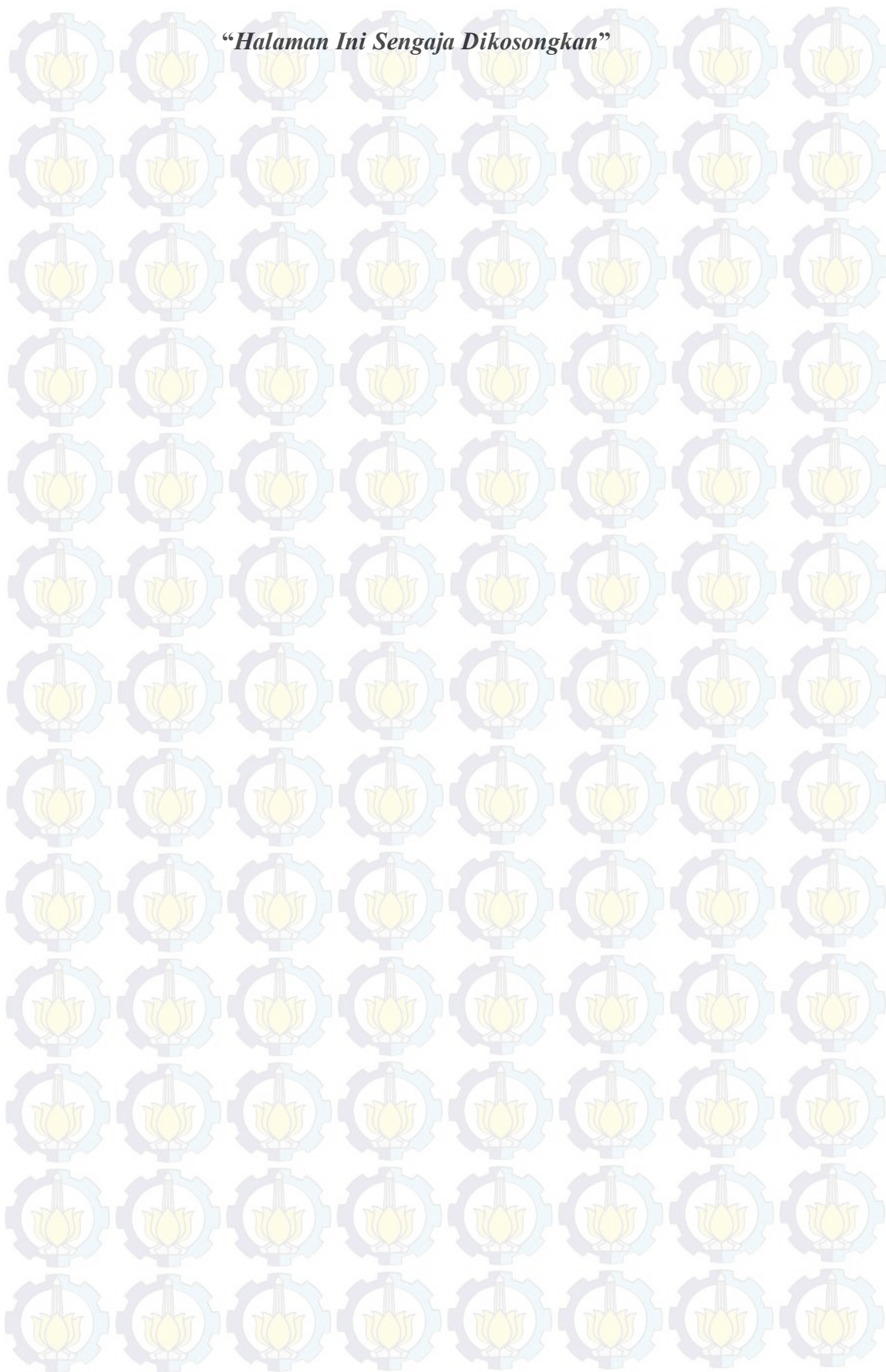
Berdasarkan kurva uji BSLT ligan BNPB seperti pada Gambar 4.16, diperoleh nilai x dengan substitusi $y = 50$ pada persamaan $y = 73,333x - 121,33$. Nilai x merupakan log konsentrasi, sehingga konsentrasi dihasilkan dengan menghitung nilai antilog x . Antilog x pada perhitungan dihasilkan sebesar 216,93. Nilai tersebut merupakan nilai LC_{50} ligan BNPB. Perhitungan nilai LC_{50} dapat dilihat pada Lampiran J.



Gambar 4.17 Kurva uji BSLT kompleks Cu(II)-BNBP

Berdasarkan kurva uji BSLT kompleks Cu(II)-BNBP seperti pada Gambar 4.17, diperoleh nilai LC_{50} seperti perhitungan di Lampiran J. Berdasarkan perhitungan tersebut diperoleh nilai LC_{50} untuk kompleks Cu(II)-BNBP sebesar 119,37 mg/l. Berdasarkan nilai LC_{50} tersebut, baik ligan BNPB maupun kompleks Cu(II)-BNBP sama-sama termasuk kategori senyawa toksik rendah (*low toxic*) (Meyer dkk., 1982). Pada penelitian ini kompleks memiliki sifat bioaktivitas yang lebih tinggi daripada ligan. Hal ini sejalan dengan penelitian Ali dkk. (2013) dimana kompleks CuL ($L = 3-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-2,6-dioxopiperidine-1-carbodithioate$) membunuh sel kanker lebih banyak daripada ligan bebasnya. Hasil LC_{50} kompleks Cu(II)-BNBP pada penelitian ini lebih besar dibandingkan pada penelitian Ferraz dkk. (2009), dimana uji BSLT dilakukan pada kompleks dari ion logam Cu(II) dengan ligan piridinformamidatiosemikarbazon ($CuC_{13}H_{13}SCIN_5$) dan dihasilkan LD_{50} sebesar 7,20 $\mu\text{mol/l}$ atau setara dengan 19,49 mg/l.

“Halaman Ini Sengaja Dikosongkan”



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

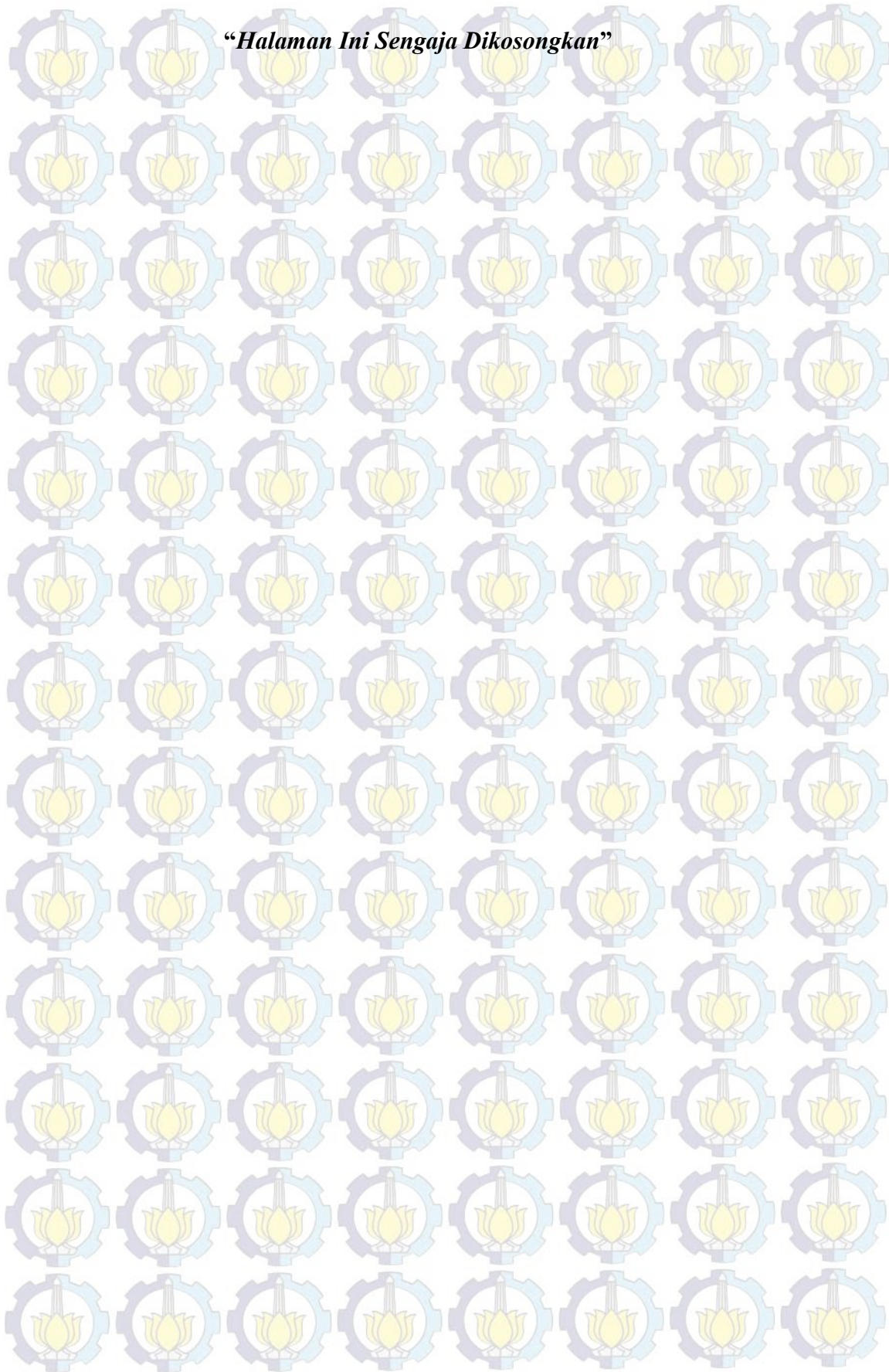
5.1 Kesimpulan

Kompleks Cu(II)-BNBP berhasil disintesis dengan perbandingan mol logam dan ligan 1:2. Kompleks berbentuk padatan berwarna coklat kekuningan dengan rendemen sebesar 48,94%. Kompleks Cu(II)-BNBP menyerap sinar UV-Visible pada panjang gelombang 324 nm. Hasil karakterisasi FTIR menunjukkan adanya ikatan logam dan ligan yaitu Cu-N pada bilangan gelombang $420,50\text{ cm}^{-1}$. Berdasarkan analisis dari C, H, N *analyzer*, AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*) dan TGA (*Thermo-Gravimetric Analyzer*), diperoleh rumus molekul kompleks $[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{Cl})_2]$. Berdasarkan uji bioaktivitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), diperoleh nilai LC_{50} ligan BNBP sebesar 216,93 mg/l dan kompleks Cu(II)-BNBP sebesar 119,37 mg/l. Berdasarkan nilai LC_{50} tersebut baik ligan maupun kompleks tergolong senyawa toksik rendah (*low toxic*).

5.2 Saran

Saran pada penelitian ini adalah perlu dilakukan uji antikanker agar diketahui efek sitotoksik kompleks terhadap suatu sel.

“Halaman Ini Sengaja Dikosongkan”



DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, M. dan Khairurijal, (2010), *Karakterisasi Nanomaterial: Teori, Penerapan, dan Pengolahan Data*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Ali, I., Waseem, A. W., Kishw, S., Ming-Fa, S., (2013), "Design and Synthesis of Thaliomide Based Dithiocarbamate Cu(II), Ni(II) and Ru(III) Complexes as Anticancer Agents", *Polyhedron*, Vol. 56, hal. 134-143.

Ataei, S. M. dan Taremi, F. (2011), "Preparation and Properties of Novel Thermally Stable Pyridine-Based Poly(amide imide amide)s", *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 121, hal. 299-308.

Barreiro, S., Maria, L. d. c., Joaquin, V., Antonio, S. P., Jose, A., Garcia, V., Jaime, R., (2015), "Structural Studies and Bioactivity of Diorganotin(IV) Complexes of Pyridine-2-Thionato Derivatives", *Journal of Organometallic Chemistry*, Vol. 791, hal. 155-162.

Bruice, P. Y., (2001), *Organic Chemistry*, Prentice Hall International, Inc. New Jersey.

Budzisz, E., Magdalena, M., Ingo-Peter, L., Peter, M., Urszula, K., Marek, R., (2009), "Synthesis and X-ray Structure of Platinum(II), Palladium(II) and Copper(II) Complexes with Pyridine-Pyrazole Ligands: Influence of Ligands' Structure on Cytotoxic Activity", *Polyhedron*, Vol. 28, hal. 637-645.

Butler, I. R., William, R. C., Tae, J. K., Steven, J. R., James, T., (1985), "1,1'-Bis(alkyl/aryl)phosphino Ferrocenes: Synthesis and Metal Complex formation, Crystal Structure of Three Metal Complexes of $\text{Fe}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4\text{PPh}_2)_2$ ", *Organometallics*, Vol. 4, hal. 972-980.

Cepeda, V., Miguel, A. F., Josefina, c., Carlos, A., Celia, Q., Jose, M. P., (2007), "Biochemical Mechanisms of Cisplatin Cytotoxicity", *Anti-Cancer Agent in Medicinal Chemistry*, Vol. 7, hal. 3-18.

Cotton, F. A., Wilkinson, G., (1989), *Advanced Inorganic Chemistry*, Fifth edition, Jhon Wiley and Sons, New York.

Day, R. A. dan Underwood, A.L., (2000), *Analisis Kimia Kuantitatif*, Erlangga, Jakarta.

Deawati, Y., Firman, S. B., Juliandri, (2013), "Sintesis dan Karakterisasi Binuklir Hofmann-like Network Besi(II) – Nikel(II) dengan Sianida dan Etilendiamin", *Prosiding Seminar Nasional Sains dan teknologi Nuklir*, hal. 278-283.

- Demazeau, G., (2010), "Solvothermal Processes: Definition, Key Factors Governing the Involved Chemical Reactions and New Trends", *Zeitschrift für Naturforschung*, Vol 65b, hal. 999-1006.
- Dhar, S., Nethaji, M., Chakravarty R. A., (2005), "Synthesis, Crystal Structure and Photo-Induced DNA Cleavage Activity of Ternary Copper(II) Complexes of NSO-Donor Schiff Bases and NN-Donor Heterocyclic Ligands", *Inorganica Chimica Acta*, Vol. 358, No. 7, hal. 2437-2444.
- El Boraey, H. A., (2012), "Coordination Behavior of Tetraaza [N4] Ligand towards Co(II), Ni(II), Cu(II), Cu(I) and Pd(II) Complexes: Synthesis, Spectroscopic Characterization and Anticancer Activity", *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 97, hal. 255-262.
- Fadeeva, V. P., V. D. Tikhova, O. N. Nikulicheva, (2008), "Elemental Analysis of Organic Compounds With the use of Automated CHNS Analyzers", *Journal of Analytical Chemistry*, Vol. 63, No. 11, hal. 1094-1106.
- Ferraz, K. O., Solange, M. S. V. W., James, L. W., Sonia, R. W. L., Heloisa, B., (2009), "Copper(II) Complexes with 2-pyridineformamide-Derived Thiosemicarbazones: Spectral Studies and Toxicity Against *Artemia salina*", *Spectrochimica Acta Part A*, Vol. 73, hal. 140-145.
- Garcia, B., Saturnino, I., Rebeca, R., Jose, M. L., Tarita, B., Alessia, B., Fernando, S. dan Marcella, V., (2009), "Solvent effects on Thermodynamics and Kinetics of Coralyne Self-Aggregation", *Journal of Physical Chemistry*, Vol. 113, hal. 188-196.
- Girolami, G. S., Thomas, B. R., Robert, J. A., (1956), *Synthesis and Technique in Inorganic Chemistry, A laboratory Manual*, Third Edition, University Science Books, Sausalito (CA).
- Gowda, S., Blessy, B. M., Sudhamani, C. N., Naik, H. S. B., (2014), "Mechanism of DNA Binding Cleavage", *Biomedicine and Biotechnology*, Vol. 2, No. 1, hal. 1-9.
- Guadarrama, O. S., Horacio, L. P., Francisco, S. B., Isabel, G.M., Herbert, H., Norah B.B., (2009), "Cytotoxic Activity, X-Ray Crystal Structures and Spectroscopic Characterization of Cobalt(II), Copper(II) and Zinc(II) Coordination Compounds with 2-substituted Benzimidazole", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Vol. 103, hal. 1204-1213.
- Guan, L., Wang, Y., (2015), "Hydrothermal Synthesis, Crystal Structures and Properties of tiron-bridged di- and Trinuclear Strontium Complexes containing Nitrogen-donor Ligands", *Polyhedron*, Vol. 97, hal. 175-181.

Habala, ., Caroline, B., Gerald, G., Michael, A., Jakupce, Benhard, K. K., Annette, R., (2015), "Complexes Of N-Hydroxyethyl-N-Benzimidazolylmethylethylenediaminediacetic Acid With Group 12 Metals And Vanadium – Synthesis, Structure And Bioactivity of The Vanadium Complex", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Vol. 147, hal. 147-152.

Hendri, M., Gusti, D., Jetun, T., (2010), "Konsentrasi Letal (LC₅₀-48 jam) Logam Tembaga (Cu) dan Logam Kadmium (Cd) Terhadap Tingkat Mortalitas Juwana Kuda Laut (*Hippocampus spp*)", *Jurnal Penelitian Sains*, Vol. 13, hal. 26-30.

Huheey, J. E., Ellen, A. K., Richard, L. K., (1993), "*Inorganic Chemistry: Principle of Structure and Reactivity*", Harper Collins College, United States of America.

Islam, M. T., M. Al-Amin, A. A. I., M.C. Sheikh, E. Zangrando, M. T. H. Tarafder, R. Miyatake, R. Zahan, M.A. Hossain, (2014), "Synthesis, Characterization and Bio-Activity of Nickel(II) and Copper(II) Complexes of A Bidentate NS Schiff Base of S-Benzyl Dithiocarbazate", *Inorganica Chimica Acta*, Vol. 427, hal. 278-284.

Jonathan B. C., (2006), "A Thermodynamic Signature for Drug–DNA Binding Mode", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Vol. 453, hal. 26–31.

Juniarti, Delvi, O., Yuhernita, (2009). Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (1,1-Diphenyl-2-Pikrilhydrazyl) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus Precatorius L.*). *Makara Sains*, Vol. 13, hal. 50-54.

Kitagawa, S., Megumu, M., Tadashi, T., (1991), "Synthesis of Novel Infinite-Sheets and Chain Copper(II) Complex Polymers {[Cu(C₄H₄N₂)_{3/2}(CH₃CN)](PF₆).0,5C₃H₆O} and {[Cu₂(C₈H₁₂N₂)₃(ClO₄)₂] and Their X-ray crystal Structures", *Inorganic Chemistry*, Vol. 31, hal. 1714-1717.

Krishnamoorthy, P., P., Sathyadevi, Alan, H.C., Rachel, R.B., N., Dharmaj, (2011), "Evaluation of DNA Binding, DNA Cleavage, Protein Binding and in vitro Cytotoxic Activities of Bivalent Transition Metal Hydrazone Complexes", *Europen Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 46, hal. 3376-3387.

Kukovec, B. M., Matija, K., Zora, P., (2012), "Synthesis and Characterization of Copper(II) Complex with 6-Hydroxypicolinic Acid and 3-Picoline", *Croat. Chemicha Acta*, Vol. 4, hal. 479-483.

- Leung-Toung, R., Wodzinska, J., Li, W., Lowrie, J., Kukreja, R., Desilets, D., Karimian, K., Tam, T.F., (2003), "1,2,4-Thiadiazole: A Novel Cathepsin B Inhibitor", *Bioorganic of Medicinal Chemistry*, Vol. 11, hal. 5529.
- Linder, M. C. dan Azam, M. H., (1996), "Copper Biochemistry and Molecular Biology", *American Journal of clinical Nutrition*, Vol. 63, hal. 797-811.
- Luo, W., Xiang, G. M., Gong, Z. C., Zhen, P. J., (2009), "Synthesis, Characterization and Bioactivity of Two Novel Trinuclear Cu(II)/Ni(II) Complexes with Pentadentate Ligand N-2-methyl-acryloyl-salicylhydrazide", *Inorganica chimica Acta*, Vol. 362, hal. 551-555.
- Machado, I., Leonardo, B. M., Bruno, D., Gustavo, A. E., Oscar, E. P., Clarice, Q. F. L., Fernando, R. P., Dinorah, G., (2014), "Bioactivity Of Pyridine-2-thiolato-1-oxide Metal Complexes: Bi(III), Fe(III) And Ga(III) Complexes As Potent Anti-Mycobacterium Tuberculosis Prospective Agents", *European Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 87, hal. 267-273.
- Macneill, C. M., (2011), "Synthesis, Characterization and Properties of Coordination and Low band Gap Polymers for Potential catalytic and Photovoltaic Application", *Dissertation of Wake Forest University Graduate School of Arts and Sciences*.
- Martak, F., Djulia, O., Ismunandar, Agung, N., (2014), "Synthesis and Characterization of $[\text{Fe}(\text{picolinate})_3][\text{MnNi}(\text{oxsalate})_3] \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ Polymeric Complex", *Indonesia Journal of Chemistry*, Vol.3, hal. 311-314.
- Medina, J. J. M., carola, A. T., Walter, S. A., Carlos, A. F., Libertad, L. T., Evelina, G. F., Nora, B. O., Patricia, A. M. W., (2015), "DFT Vibrational Assignments, In Vitro Antifungal Activity, Genotoxic And Acute Toxicity Determinations Of The $[\text{Zn}(\text{phen})_2(\text{cnge})(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ Complex", *Journal of Molecule Structure*, Vol. 1200, hal. 366-375.
- Mei, H. dan Barton, J., (1986), "A Chiral Probe for A-form Helices of DNA and RNA: Tris(tetramethylphenanthroline)ruthenium(II)", *Journal of American Chemistry Society*, Vol. 108, hal. 7414.
- Meissler, G.L. dan Donald A.T., (2005), *Inorganic Chemistry, Third Edition*, Pearson Education Inc, New Jersey.
- Meyer, B. N., Ferrighi, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., McLaughlin, J.L., (1982), "Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for active Plant Constituents", *Planta Medica*, Vol. 45, hal. 31-34.

Nurvika, D., Suhartana, Pardoyo, (2013), "Sintesis dan Karakterisasi senyawa Kompleks Cu(II)-EDTA dan Cu(II)-C₆H₈N₂O₂S₂", *Chem Info*, Vol.1, hal. 70-75.

Owen, T., (2000), *Fundamentals of Modern UV-Visible Spectroscopy*, Agilent Technologies, Germany.

Pothiraj, K., Thanasekaran, B., Natarajan, R., (2012), "DNA Interaction Studies of d9 and d10 Metal Complexes Having Schiff Base and Polypyridyl Ligands", *Journal of Coordination Chemistry*, Vol. 65, No. 12, hal. 2110-2126.

Qiao, X., Zhong, Y. M., Cheng, Z. X., Fei, X., Yan, W. Z., Jing, Y. X., Zhao, Y. Q., Jian, S. L., Gong, J. C., Shi-Ping, Y., (2011), "Study of Potential Antitumor Mechanism of A Novel Schiff Base Copper(II) Complex: Synthesis, Crystal Structure, DNA Binding, Cytotoxicity and Apoptosis Induction Activity", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Vol. 105, hal. 728-737.

Reedijk, J. dan Lohman, P. H. M., (1985), "Cisplatin: Synthesis, Antitumor Activity and Mechanism of Action", *Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition*, Vol. 7, hal. 173-180.

Rosenberg, B., Loretta, V. C., Thomas, K., (1965), "Inhibition of Cell Division in Escherichia coli by Electrolysis Products from a Platinum Electrode", *Nature*, Vol 205, hal. 698-699.

Rixe, O., Waldo, O., Manuel, A., Ricardo, P., Eddie, R., Ken, P., Tito, F., (1996), "Oxaliplatin, Tetraplatin, Cisplatin And Carboplatin: spectrum of Activity in Drug-Resistant Cell Lines and in the Cell Lines of the National Cancer Institute's Anticancer Drug Screen Panel", *Biochemical Pharmacology*, Vol. 52, hal. 1855-1865.

Ronconi, L. dan Salder, P. J. S., (2007), "Using Coordination Chemistry to Design New Medicine", *Coordination Chemistry Reviews*, Vol. 251, hal. 1633-1648.

Saheb, V., Iran, S., Nasim, S., Hadi, A. R., Giuseppe, B., (2013), "A New Tridentate Schiff Base Cu(II) Complex: Synthesis, Experimental and Theoretical Studies on its Crystal Structure, FT-IR and UV-Visible spectra" *Spectrochimica Acta part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 110, hal 124-129.

Santini, C., Maura, P., Valentina, G., Marina, P., Francesce, T., Cristina, M., (2013), "Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents", *American Chemical Society*, Vol. 114, hal. 815-862.

Sinha, Rangana, Md.Maidul, I., Kakali, B., Gopinatha, S. K., Anamika, B., Motilal, M., (2006), "The Binding of DNA Intercalating and Non-

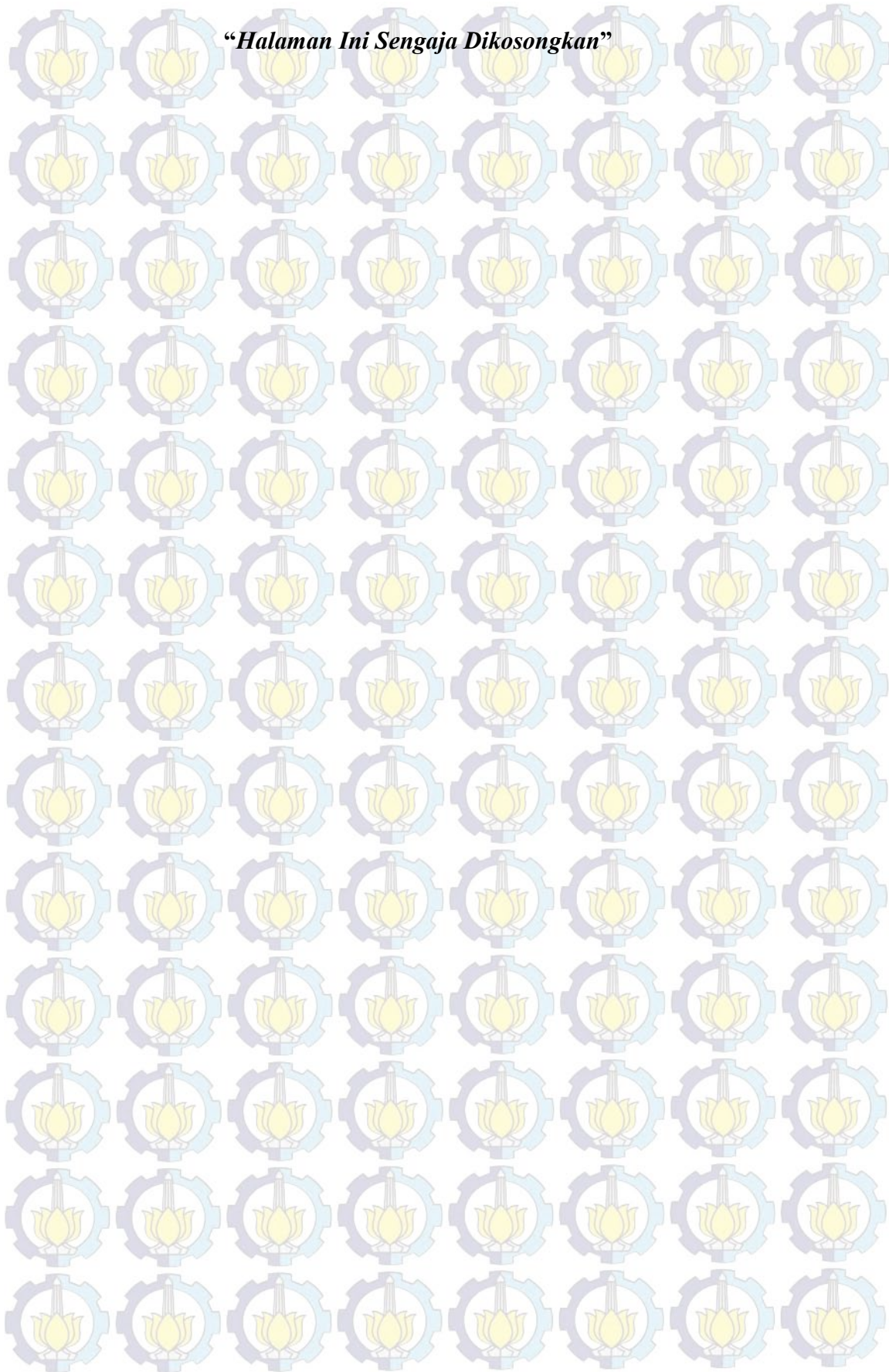
- Intercalating Compounds to A-form and Protonated form of Poly(rC)·poly(rG): Spectroscopic and Viscometric Study”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, Vol. 14, hal. 800–814.
- Skoog, D. A., Donald, M. W., F. James, H., (1992), *Fundamentals of Analytical Chemistry sixth edition*. Saunders College Publishing, United States of America.
- Stuart, B., (2004), *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and applications*, John Wiley & Sons, Ltd.
- Suchanek, W. L., Riman, R. E., (2006), “Hydrothermal Synthesis of Advanced Ceramic Powders”, *Advances in Science and Technology*, Vol. 45, hal. 184-193
- Sukirman, E., Wisnu, A. A., Yustinus, P. (2012), “Struktur Kristal dan Magnetoresistance Perovskite $\text{La}_{0.7}\text{Ca}_{0.3}\text{MnO}_3$ Pada Suhu Kamar”, *Jurnal Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia*, Vol. 13, No. 2, hal. 61-72.
- Swastika, L. N., Martak, F., (2012) , “Sintesis dan Sifat Magnetik Kompleks Ion Logam Cu(II) dengan ligan 2-feniletilamin”, *Jurnal Sains dan Seni Pomits*, Vol. 1, No. 1, hal. 1-5.
- Taremi, F., Shahram, M. A., Ali, M., (2010), “Synthesis and Properties of New Heat-resistant Pyridine-based Polyimides Containing Preformed Amides Units”, *Iranian Polymer Journal*. Vol. 19, No. 11, hal. 875-883.
- Tarita, B., Angela, D., Fernando, S., Marcella, V., Sergiy, Y., (2005), “Cyanine Dyes as Intercalating Agents: Kinetic and Thermodynamic Studies on the DNA/Cyan40 and DNA/CCyan2 Systems”, *Biophysical Journal*, Vol. 437, hal. 215.
- Tiwari, A. D., A. K. Mishrab, S. B., Mishraa, B. B., Mambaa, B. Majic, S. Bhattacharya, (2011), “Synthesis and DNA Binding Studies of Ni(II), Co(II), Cu(II) and Zn(II) Metal complexes of N1,N5-bis[pyridine-2-methylene]-thiocarbohydrazone Schiff-base Ligand”, *Spectrochimica Acta Part A*, Vol. 79, hal. 1050–1056.
- Thompson, M., (2008), “CHNS Elemental Analysers”, *The Royal Society of Chemistry*, ISSN 1757-5958.
- Warad, I., Ala’a, F. E., Mohammed A. A., Ahmad, I. H., Mohamed A., Ahmad A. O., Nabil A. Z., Taibi, B. H., Belkheir, H., (2013), “Metal Ions As Antitumor Complexes-Review”, *Journal of Material Environmental Science*, Vol. 4, No. 4, hal. 542-557.

Yousef, T. A., Abu El-Reash, G. M., El-Sayad, H. I., El Gammal, O. A., Sharaa, M. B., (2015), "Characterization, Quantum, Antibacterial, Antifungal, Antioxidant and Acute Toxicity Studies on Hg(II) and Cd(II) Complexes of Allyl and Ethyl Thiosemicarbazides Derived from 2-Aminothiazole-4-Yl Aceto Hydrazide", *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*.

Zhang, Q. W., Li, J. Q., (2012), "Synthesis and Biological Evaluation of N-(Aminopyridine)Benzamide Analogues as Histone Deacetylase Inhibitors", *Bulletin Korean Chemistry Society*, Vol. 33, No. 2, hal. 535-540.

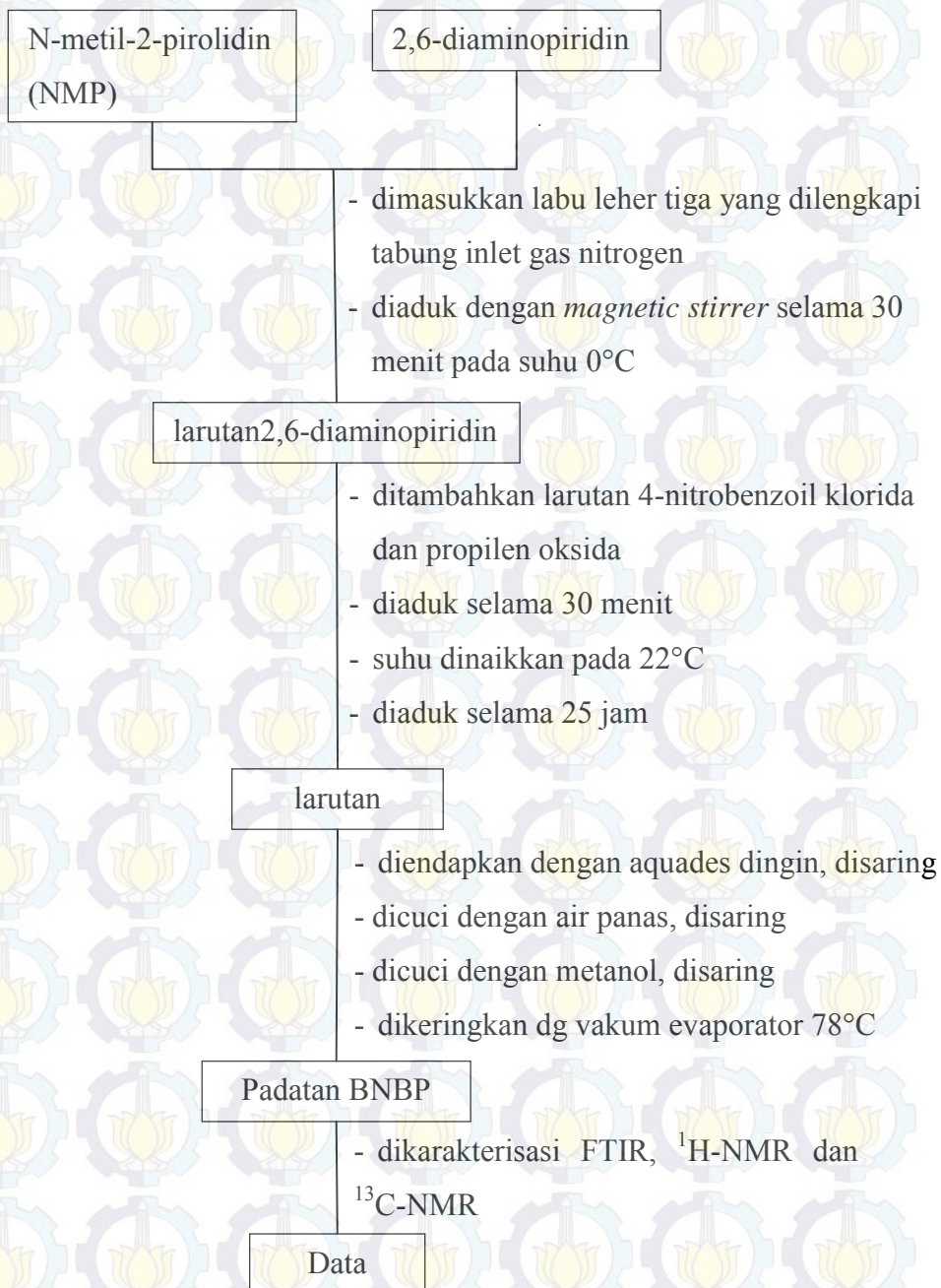
Zhang, F., Qiu-Yue, L., Xiao-Liang, Z., Ling-Ling, Z., Qiong, Y., Jia-Ying, G., (2012), "Crystal Structures, Interactions with Biomacromolecules and Anticancer Activities of Mn(II), Ni(II), Cu(II) Complexes of Demethylcantharate and 2-minopyridine", *Journal Fluorescent*, Vol. 22, hal. 1395-1406.

“Halaman Ini Sengaja Dikosongkan”

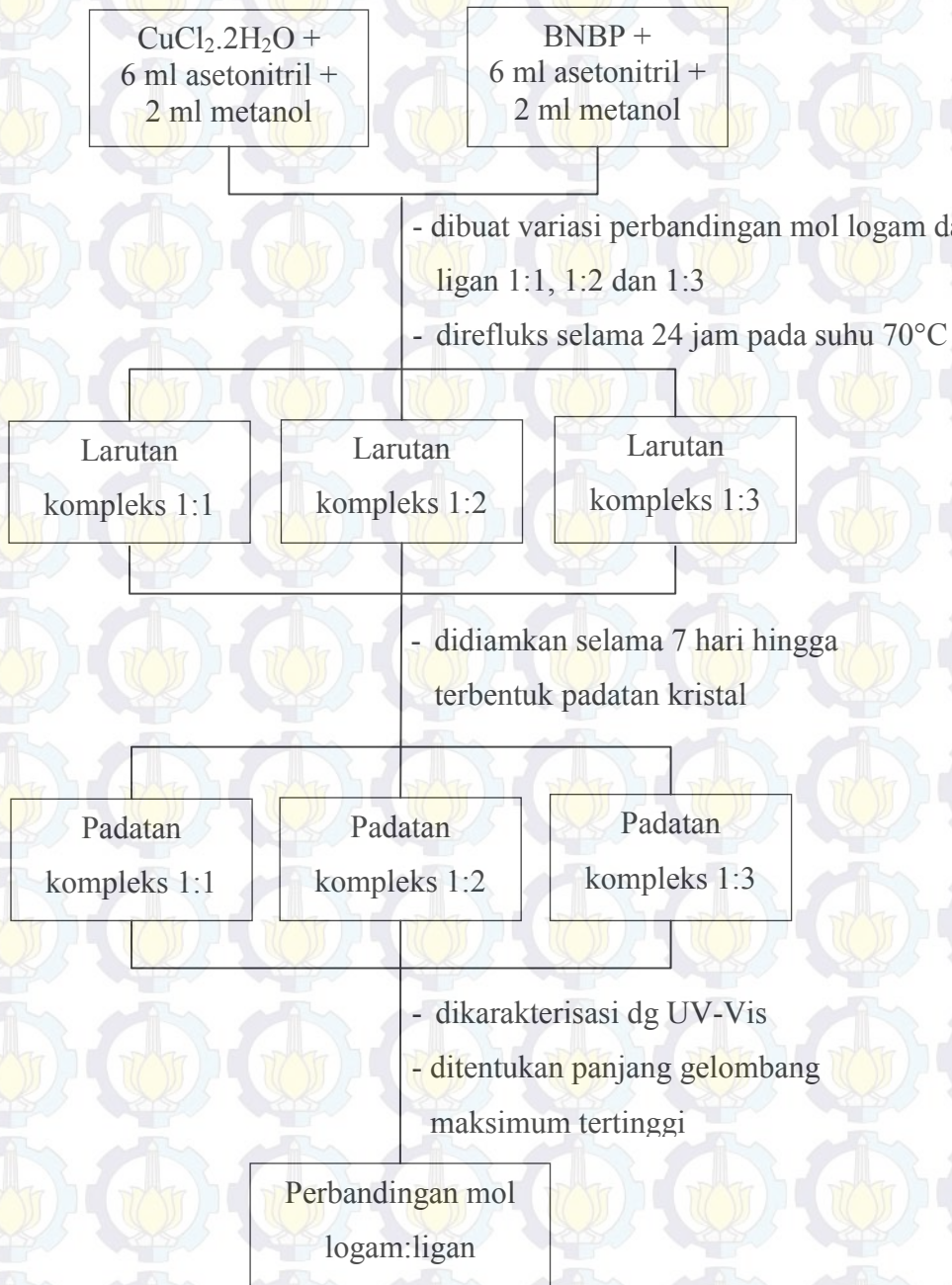


LAMPIRAN A SKEMA KERJA

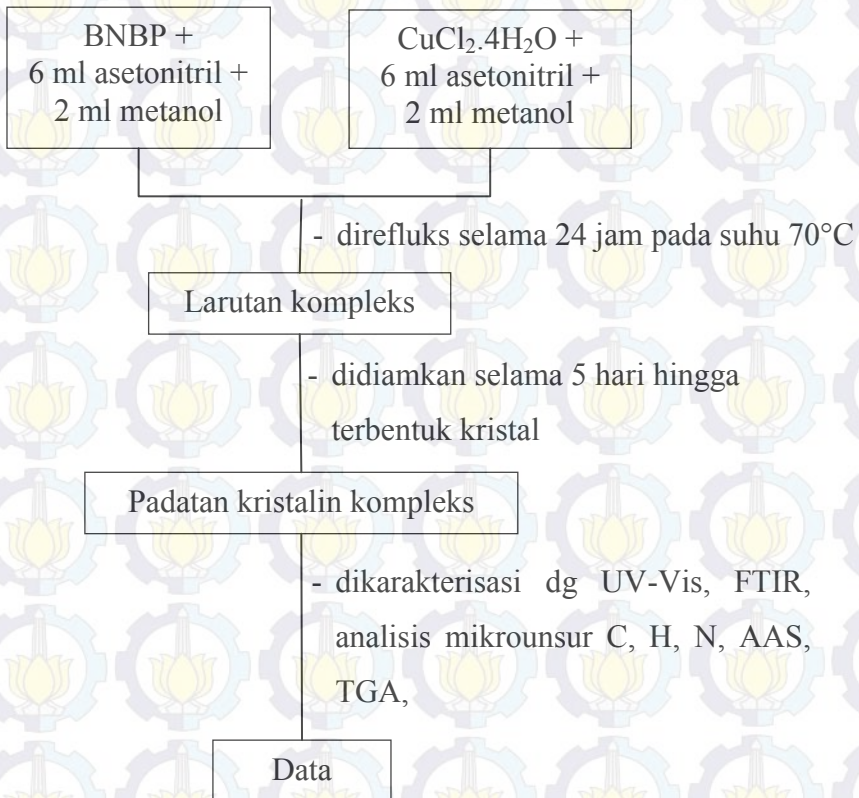
A.1 Sintesis Ligan BNPB



A.2 Penentuan Perbandingan Mol Logam dan Ligan



A.3 Sintesis Kompleks Cu(II)-BNBP



LAMPIRAN B

PERHITUNGAN RENDEMEN

B.1 Perhitungan Rendemen Ligan

$$\text{Mol ligan teoritis} = 0,015 \text{ mol}$$

$$\text{Massa molekul relatif ligan} = 407,336 \text{ g/mol}$$

$$\begin{aligned}\text{Sehingga, massa ligan secara teoritis} &= 0,015 \text{ mol} \times 407,336 \text{ g/mol} \\ &= 6,110 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\text{Massa ligan hasil sintesis} = 5,166 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Massa ligan hasil sintesis}}{\text{Massa ligan teoritis}} \times 100 \\ &= \frac{5,166 \text{ gram}}{6,110 \text{ gram}} \\ &= 84,549\%\end{aligned}$$

B.2 Perhitungan Rendemen Kompleks

$$\text{Mol kompleks teoritis} = 0,25 \text{ mmol}$$

$$\text{Massa molekul relatif kompleks} = 948,5 \text{ mg/mmol}$$

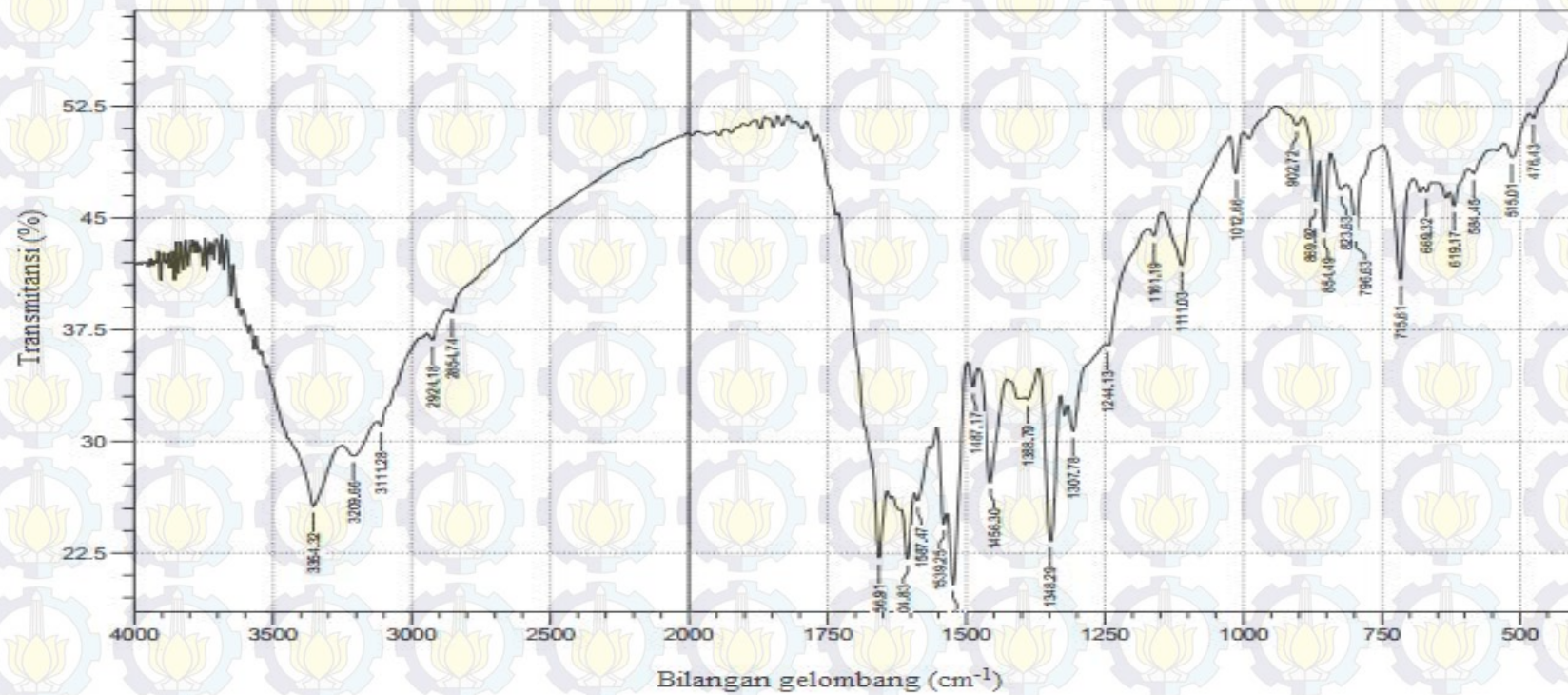
$$\begin{aligned}\text{Sehingga massa kompleks secara teoritis} &= 0,25 \text{ mmol} \times 948,5 \text{ mg/mmol} \\ &= 0,237 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\text{Massa kompleks hasil sintesis} = 0,116 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{massa kompleks hasil sintesis}}{\text{massa kompleks teoritis}} \times 100 \\ &= \frac{0,116 \text{ gram}}{0,237 \text{ gram}} \times 100 \\ &= 48,94\%\end{aligned}$$

LAMPIRAN C

SPEKTRUM DAN DATA BILANGAN GELOMBANG FTIR LIGAN BNPB



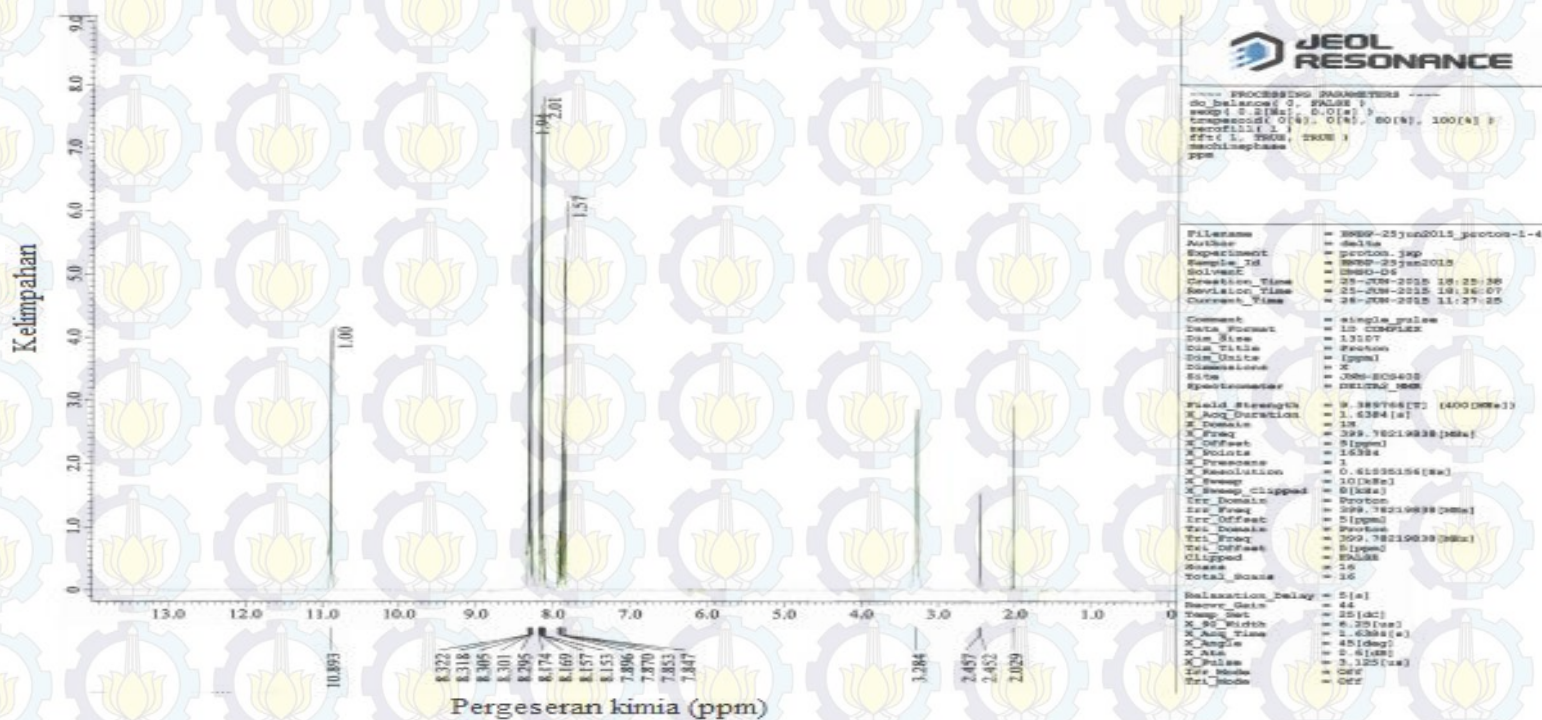
Gambar C.1 Spektrum FTIR ligan BNPB

Tabel C.1 Data bilangan gelombang spektrum FTIR ligan BNPB

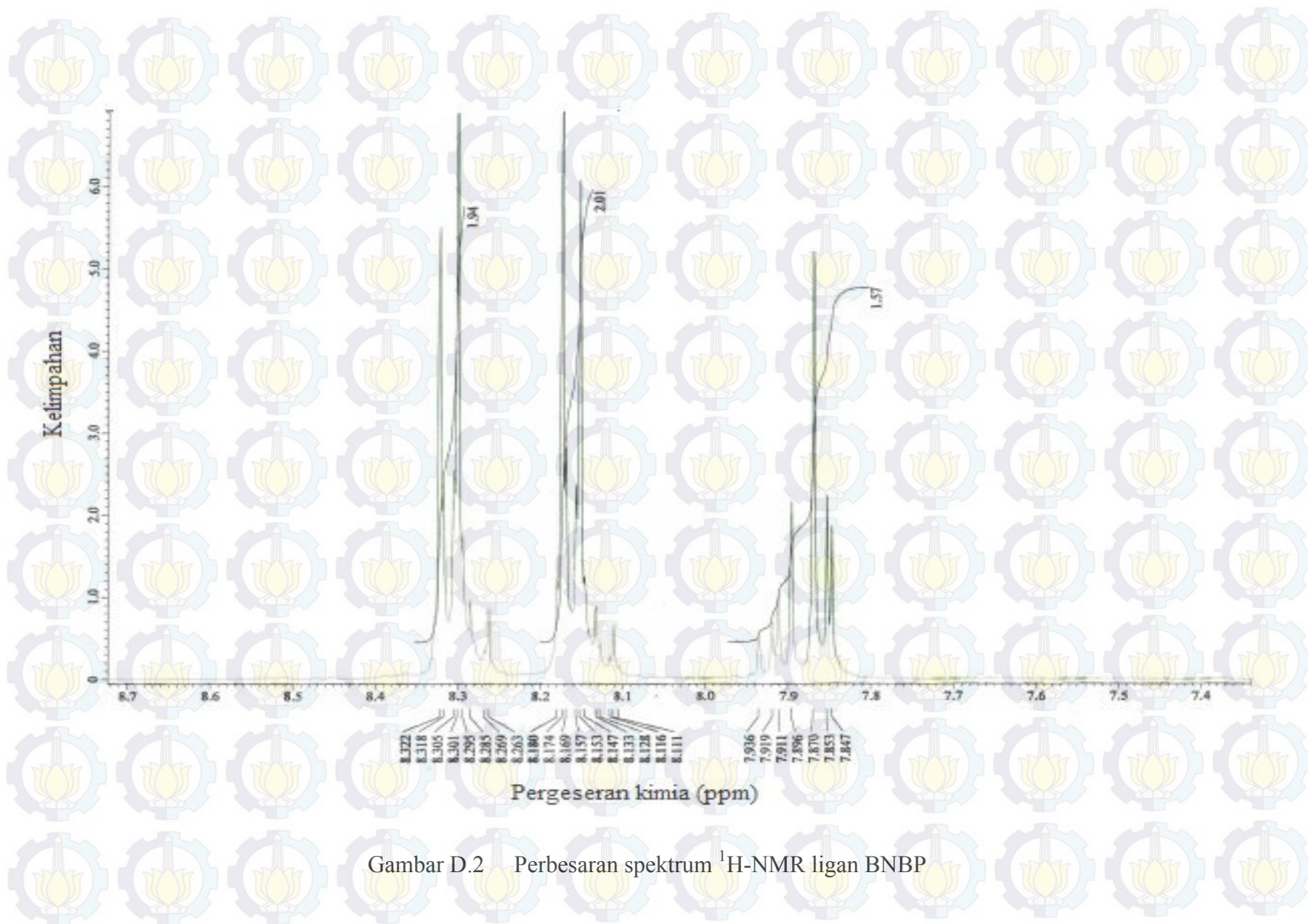
No.	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	476.43	51.681	0.824	484.15	406.99	20.695	0.346
2	515.01	49.059	1.557	528.51	484.15	13.255	0.28
3	584.45	47.991	0.592	594.1	547.8	14.399	0.036
4	619.17	45.81	1.265	626.89	594.1	10.724	0.122
5	669.32	46.715	0.49	675.11	661.61	4.428	0.029
6	715.61	40.884	7.666	748.41	692.47	18.887	1.425
7	796.63	43.874	4.067	813.99	748.41	21.058	0.476
8	823.63	46.896	1.036	842.92	813.99	9.291	0.138
9	854.49	44.071	4.942	862.21	842.92	6.387	0.422
10	869.92	46.073	3.471	893.07	862.21	9.479	0.257
11	902.72	51.238	0.656	941.29	893.07	13.741	0.093
12	1012.66	47.991	2.595	1024.24	999.16	7.648	0.229
13	1111.03	41.79	5.089	1147.68	1024.24	41.455	1.936
14	1161.19	43.77	0.938	1170.83	1147.68	8.167	0.095
15	1244.13	36.43	0.475	1247.99	1170.83	29.733	-0.808
16	1307.78	30.65	2.224	1315.5	1247.99	31.346	0.058
17	1348.29	23.317	10.538	1367.58	1330.93	20.185	2.941
18	1388.79	32.822	0.568	1394.58	1369.5	11.888	0.106
19	1456.3	27.258	7.301	1477.52	1427.37	25.356	2.169
20	1487.17	33.644	1.422	1496.81	1479.45	8.044	0.148
21	1523.82	20.385	7.343	1533.46	1496.81	21.022	1.949
22	1539.25	24.447	1.988	1552.75	1535.39	9.993	0.299
23	1587.47	26.015	1.192	1593.25	1566.25	15.17	0.269
24	1604.83	22.088	3.816	1616.4	1595.18	13.162	0.713
25	1656.91	22.172	7.413	1728.28	1643.41	42.031	2.812
26	2854.74	38.645	0.435	2872.1	2183.49	241.842	-6.194
27	2924.18	36.808	0.879	2945.4	2872.1	30.997	0.209
28	3111.28	31.016	0.741	3122.86	2970.48	71.227	-0.125
29	3209.66	29.03	1.207	3250.16	3122.86	66.746	1.159
30	3354.32	25.645	4.335	3443.05	3252.09	105.352	5.395

LAMPIRAN D

SPEKTRUM ^1H -NMR LIGAN BNPB DAN PERBESARAN



Gambar D.1 Spektrum ^1H -NMR ligan BNPB



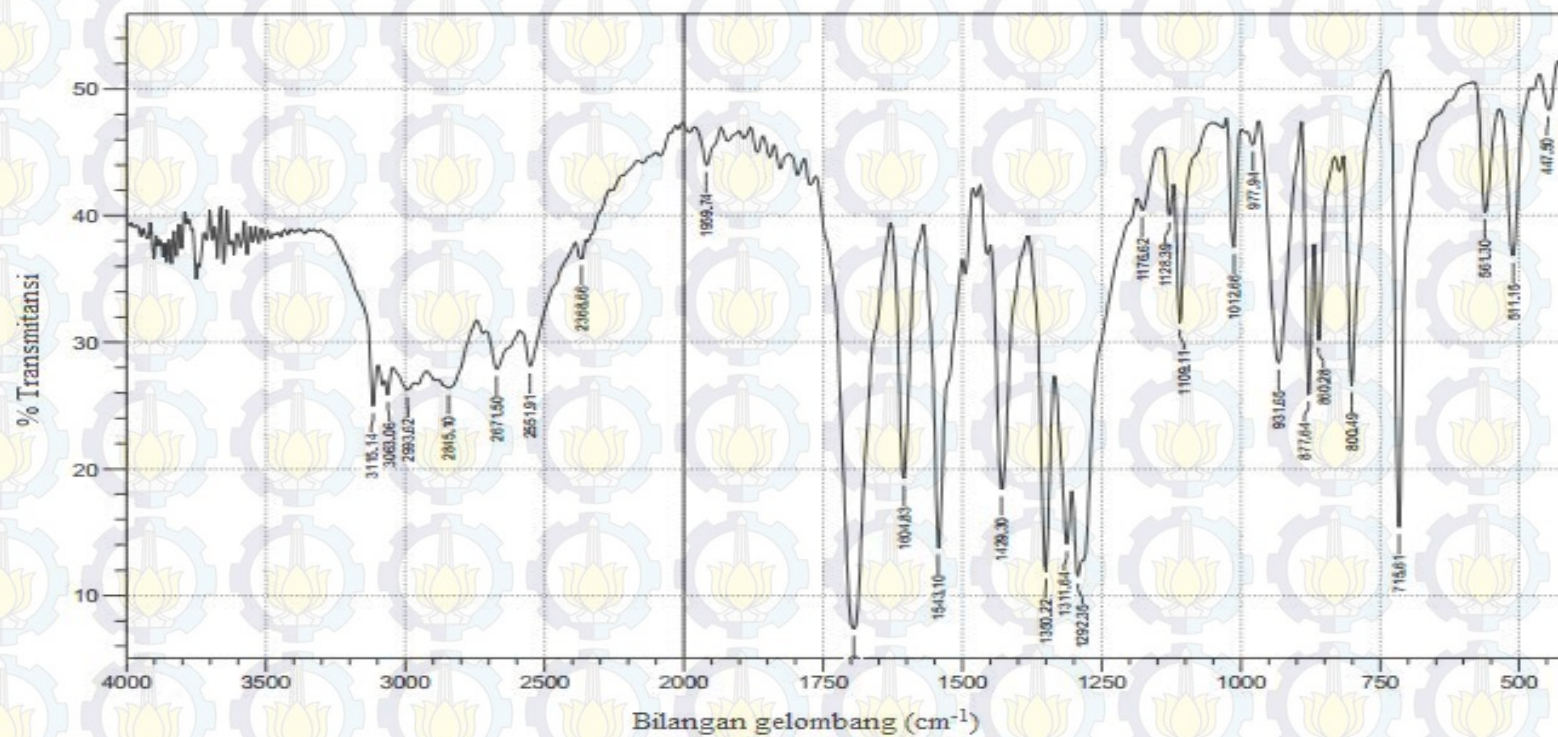
13C NMR spectrum of carbon-13 labeled sucrose. The x-axis represents chemical shift (Pergeseran kimia) in ppm, ranging from 220 to 0. The y-axis represents intensity (Kelimpahan). The spectrum shows several sharp peaks, with the most intense at approximately 100 ppm (anomeric carbons). Other significant peaks are labeled with their chemical shift values: 160.135, 145.766, 144.917, 135.840, 135.421, 126.249, 125.066, 119.279, 119.088, 107.466, 35.727, 35.518, 35.308, 35.108, 34.898, 34.683, and 34.478. A table of processing parameters is provided on the right side of the spectrum.

Processing Parameters	
Filename	= 8900-25\jcm2015_carbon-13-01
Author	= delfa
Experiment	= carbon_13p
Sample Id	= 8900-25
Solvent	= DMSO-d6
Creation Time	= 31-JUN-2015 12:37:30
Revision Time	= 1-JUL-2015 11:14:38
Current Time	= 6-JUL-2015 10:14:59
Comment	= single pulse decoupled gat
Data Format	= 1d cgh45
Dir Size	= 26714
Dir Title	= carbon13
Dir Units	= [ppm]
Dimensions	= 1
Size	= 384-326400
Spectrometer	= spect
Field Strength	= 125.761918 [MHz]
X_Acq_Orbit	= 1.04333333 [s]
X_Cycle	= 100
X_Freq	= 125.761918 [MHz]
X_Offset	= 100 [ppm]
X_Points	= 32768
X_Pulseprog	= 4
X_Resolution	= 0.3884666 [Hz]
X_Sweep	= 31.45703512 [kHz]
X_Sweep_Clip	= 25.13540814 [kHz]
Xv_Domain	= Proton
Xv_Freq	= 299.14219998 [MHz]
Xv_Offset	= 5 [ppm]
Clipped	= FALSE
Shape	= 2048
Total_Gauss	= 32048
Relaxation_Delay	= 2 [s]
Recvr_Gain	= 48
Transmit	= 10 [dB]
X_90_Width	= 10 [us]
X_Acq_Time	= 1.04333333 [s]
X_Angle	= 30 [deg]
X_Alt	= 4 [1/deg]
X_P1	= 3.00000000 [us]
Xv_Alt_P1	= 25.5 [deg]
Xv_Alt_P2	= 25.5 [deg]
Xv_Alt_P3	= 25.5 [deg]
Xv_Alt_P4	= 25.5 [deg]
Xv_Alt_P5	= 25.5 [deg]
Decoupling	= 0.1 [s]
Decoupling	= 100%

77

LAMPIRAN F

SPEKTRUM DAN DATA BILANGAN GELOMBANG FTIR KOMPLEKS Cu(II)-BNBP



Gambar F.1 Spektrum FTIR kompleks Cu(II)-BNBP

Tabel F.1 Data panjang gelombang FTIR kompleks Cu(II)-BNBP

	Peak	Intensity	Corr. Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	420.5	50.008	2.85	430.14	408.92	6.146	0.281
2	447.5	48.36	3.305	462.93	430.14	9.878	0.481
3	511.15	36.815	12.338	536.23	480.29	19.824	2.61
4	561.3	40.25	9.366	580.59	536.23	15.226	1.663
5	715.61	15.376	35.647	734.9	626.89	42.376	10.073
6	800.49	26.594	19.046	813.99	736.83	29.243	4.603
7	860.28	30.127	9.065	868	831.35	15.264	1.092
8	877.64	25.873	15.263	889.21	869.92	9.343	1.945
9	931.65	28.377	19.015	966.37	891.14	32.226	7.831
10	977.94	45.596	1.5	989.52	968.3	7.099	0.152
11	1012.66	37.486	9.768	1026.16	999.16	9.976	1.184
12	1109.11	31.509	11.744	1120.68	1049.31	26.611	1.749
13	1128.39	40.031	3.595	1139.97	1120.68	7.222	0.324
14	1176.62	40.432	1.936	1186.26	1147.68	14.36	0.341
15	1292.35	11.485	8.444	1301.99	1186.26	66.413	5.231
16	1311.64	14.046	6.589	1332.86	1303.92	21.167	2.131
17	1350.22	11.872	19.151	1381.08	1334.78	28.848	6.053
18	1429.3	18.388	19.482	1448.59	1383.01	34.85	7.308
19	1543.1	13.778	24.344	1568.18	1500.67	38.81	10.229
20	1604.83	19.23	20.165	1627.97	1570.11	29.684	6.268
21	1695.49	7.37	33.809	1761.07	1629.9	81.573	30.937
22	1959.74	44.002	2.974	1980.96	1932.74	16.427	0.602
23	2368.66	36.613	1.38	2389.88	2351.3	16.568	0.35
24	2551.91	28.111	4.1	2588.56	2389.88	95.947	3.53
25	2671.5	27.872	3.015	2708.15	2590.49	62.483	2.467
26	2845.1	26.371	1.799	2877.89	2744.8	73.247	2.303
27	2993.62	26.232	0.979	3043.77	2966.62	43.992	0.596
28	3063.06	25.817	1.5	3072.71	3043.77	16.507	0.278
29	3115.14	24.946	4.274	3267.52	3097.78	80.672	-1.242

LAMPIRAN G

ANALISIS PENENTUAN KADAR UNSUR C, H, N DALAM KOMPLEKS

Eager 300 Report

Page : 1 Sample : 1 (unk 274)

Method Name : NCHS
 Method File : C:/Program Files/Thermo Finnigan/Eager300 for EA1112/CHNS/SEP
 Chromatogram : unk 274
 Operator ID : Bakri bin Din Company Name : ThermoFinnigan
 Analysed : 05/08/2006 15:00 Printed : 5/8/2006 15:10
 Sample ID : 1 (# 87) Instrument N. : Instrument #1
 Analysis Type: Unknown (Area) Sample weight : 2.863

Calib. Method: using 'K Factors'

!!! Warning missing one or more peaks.

Element Name	Ret.Time	Area	BC	Area ratio	K.factor	
Nitrogen	14.6510	46	69119	RS	79.345050	.183929E+07
Carbon	48.1690	69	5484251	RS	1.000000	.441322E+07
Hydrogen	2.6421	222	1966062	RS	2.789460	.128636E+08
Totals			7519432			

Gambar G.1 Hasil analisis CHN analyzer

G.1 Hasil Analisis Kadar Unsur C, H, N Kompleks secara Eksprimen

$$\% \text{ C} = 48,169$$

$$\% \text{ H} = 2,642$$

$$\% \text{ N} = 14,651$$

G.2 Perhitungan Kadar Unsur C, H, N Kompleks secara Teoritis



$$\text{Mr} = 931 \text{ g/mol}$$

$$\% \text{ C} = \frac{931}{38 \times 12} = \times 100 \% = 48,98 \%$$

$$\% \text{ H} = \frac{28 \times 1}{931} = \times 100 \% = 3,008 \%$$

$$\% \text{ N} = \frac{10 \times 14}{931} = \times 100 \% = 15,038 \%$$



$$\text{Mr} = 982,5 \text{ g/mol}$$

$$\% \text{ C} = \frac{38 \times 12}{982,5} = \times 100 \% = 46,412\%$$

$$\% \text{ H} = \frac{28 \times 1}{982,5} = \times 100 \% = 2,850\%$$

$$\% \text{ N} = \frac{10 \times 14}{982,5} = \times 100 \% = 14,249\%$$



$$\text{Mr} = 848,5 \text{ g/mol}$$

$$\% \text{ C} = \frac{38 \times 12}{948,5} = \times 100 \% = 48,076 \%$$

$$\% \text{ H} = \frac{26 \times 1}{948,5} = \times 100 \% = 2,741 \%$$

$$\% \text{ N} = \frac{10 \times 14}{948,5} = \times 100 \% = 14,760 \%$$

Tabel G.1 Data kadar unsur C, H, N menurut prediksi rumus molekul

Rumus molekul	Atom	Σ atom	Σ BM (g/mol)	C,H,N (%)
[Cu(L) ₂ (Cl)(H ₂ O)].Cl	C	38	931	48,98
	H	28		3,008
	N	10		15,038
[Cu(L) ₂ (H ₂ O) ₂].Cl ₂	C	38	982,5	46,412
	H	28		2,850
	N	10		14,249
[Cu(L) ₂ (Cl) ₂]	C	38	948,5	48,076
	H	26		2,741
	N	10		14,760

LAMPIRAN H

ANALISIS AAS

H.1 Perhitungan Kadar Ion Logam Cu(II)

Konsentrasi larutan standart = 100 ppm = 100 mg/l

Massa $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$$100 \text{ mg/l} = \frac{\text{Ar Cu}}{\text{Mr CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}} \times \text{massa sampel}$$

$$100 \text{ mg/l} = \frac{63,546 \text{ g/mol}}{170,482 \text{ g/mol}} \times \text{massa sampel}$$

$$\text{massa sampel} = \frac{170,482 \times 100 \text{ mg/l}}{63,546}$$

$$\text{massa sampel} = 268,281 \text{ mg/l}$$

$$\text{massa sampel} = 0,268 \text{ g/l}$$

$$\text{massa sampel} = 0,013 \text{ g/50ml}$$

H.2 Pembuatan Larutan Standar 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/l

Konsentrasi 2 mg/L :

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ml} &= 50 \text{ ml} \times 2 \text{ mg/l} \\ V_1 &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

Konsentrasi 4 mg/L :

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ml} &= 50 \text{ ml} \times 4 \text{ mg/l} \\ V_1 &= 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Konsentrasi 6 mg/L :

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ml} &= 50 \text{ ml} \times 6 \text{ mg/l} \\ V_1 &= 3 \text{ ml} \end{aligned}$$

Konsentrasi 8 mg/L :

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ml} &= 50 \text{ ml} \times 8 \text{ mg/l} \end{aligned}$$

$$V_1 = 4 \text{ ml}$$

$$\text{Konsentrasi } 10 \text{ mg/L} : V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

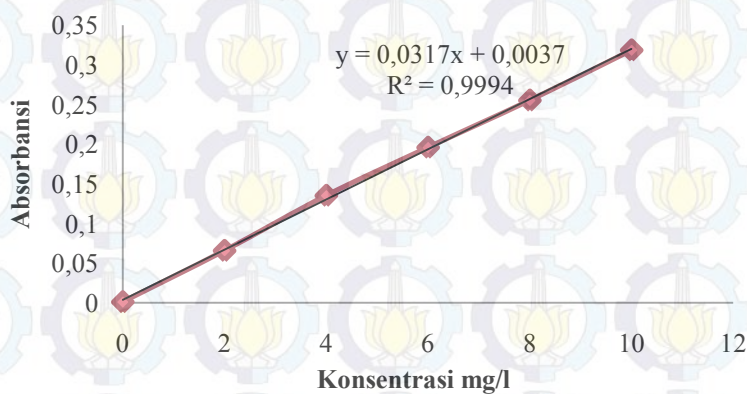
$$V_1 \times 100 \text{ ml} = 50 \text{ ml} \times 10 \text{ mg/l}$$

$$V_1 = 5 \text{ ml}$$

H.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar

Tabel H.1 Tabel absorbansi Cu dalam larutan standar

Konsentrasi (mg/l)	Absorbansi
0	0,00
2	0,0658
4	0,1353
6	0,1960
8	0,2554
10	0,3187



Gambar H.1 Kurva kalibrasi larutan standar

Tabel H.2 Data absorbansi Cu dalam larutan sampel (kompleks)

Cuplikan	Konsentrasi mg/l	Absorbansi
Sampel	0,1543	0,0113

H.4 Perhitungan Kadar Ion Logam Cu(II) Secara Eksperimen

Persamaan regresi linier:

$$y = ax + b$$

$$y = 0.0317x + 0.0037$$

Konsentrasi sampel

$$y = 0.0317x + 0.0037$$

$$0,0113 = 0.0317x + 0.0037$$

$$x = 0,154$$

$$\begin{aligned}\text{Massa sampel terukur} &= \frac{0,154 \times 948,5 \times 0,05}{63,546} \\ &= 0,114931703\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kadar (\%) Cu dalam sampel} &= \frac{0,154 \times 0,05}{0,058} \times 100 \\ &= 6,699 \%\end{aligned}$$

H.5 Perhitungan Kadar Ion Logam Cu(II) secara Teoritis



$$\text{Mr} = 931 \text{ g/mol}$$

$$\% \text{ Cu} = \frac{63,546}{931} \times 100 \% = 6,821 \%$$



$$\text{Mr} = 982,5 \text{ g/mol}$$

$$\% \text{ Cu} = \frac{63,546}{982,5} \times 100 \% = 6,463 \%$$



$$\text{Mr} = 948,5 \text{ g/mol}$$

$$\% \text{ Cu} = \frac{63,546}{948,5} \times 100 \% = 6,695 \%$$

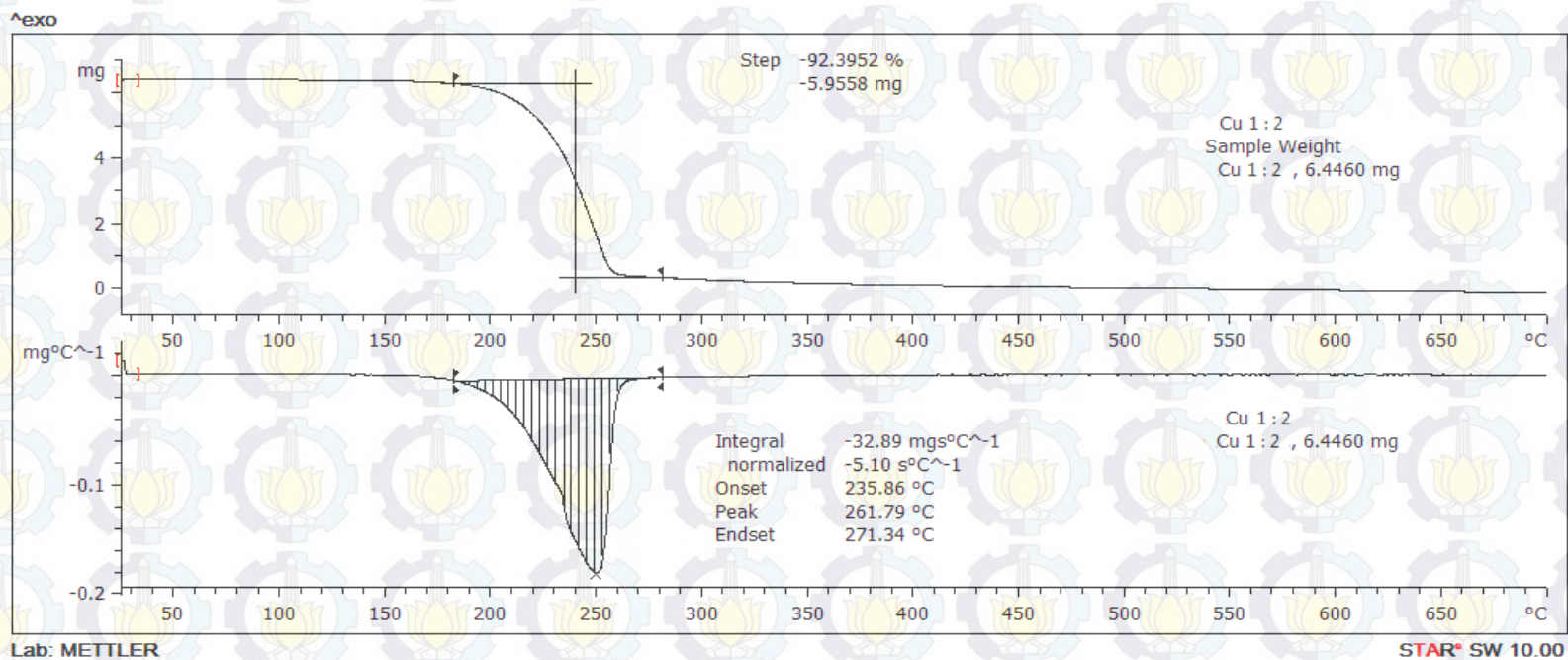
Tabel H.3 Kandungan unsur C, H, N dan Cu secara eksperimen dan teoritis

Rumus	Atom	Σ atom	Σ BM	C,H,N (%)	Cu (%)
[Cu(L) ₂ (Cl)(H ₂ O)].Cl	C	38	931	48,98	6,821
	H	28		3,008	
	N	10		15,038	
[Cu(L) ₂ (H ₂ O) ₂].Cl ₂	C	38	982,5	46,412	6,463
	H	28		2,850	
	N	10		14,249	
[Cu(L) ₂ (Cl) ₂]	C	38	948,5	48,076	6,695
	H	26		2,741	
	N	10		14,760	

LAMPIRAN I

ANALISIS TGA KOMPLEKS

I.1 Hasil Analisis TGA Kompleks



Gambar I.1 Kurva TGA kompleks Cu(II)-BNBP

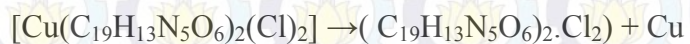
I.2 Perhitungan Berat Hilang secara Teoritis

Rumus molekul kompleks $[\text{Cu}(\text{L})_2(\text{Cl})_2]$ atau $[\text{Cu}(\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_6)_2(\text{Cl})_2]$

- Suhu dekomposisi = 235,86 - 271,34°C

- Berat hilang terukur = 92,395 %

- Berat residu terukur = 100 % - 92,395 % = 7,605 %



- Berat hilang teoritis = $\frac{885}{948,5} \times 100\% = 93,305\%$

- Berat residu teoritis = $\frac{63,546}{948,5} \times 100\% = 6,695\%$

Tabel II. Data penurunan berat eksperimen dan teoritis TGA kompleks

Suhu dekomposisi (°C)	Berat eksperimen (%)	Rumus kompleks	Berat teoritis (%)
0	100	$[\text{Cu}(\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_6)_2(\text{Cl})_2]$	100
235,86 - 271,34	92,395	$(\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_6)_2(\text{Cl})_2$	93,305
	7,605	Cu	6,695

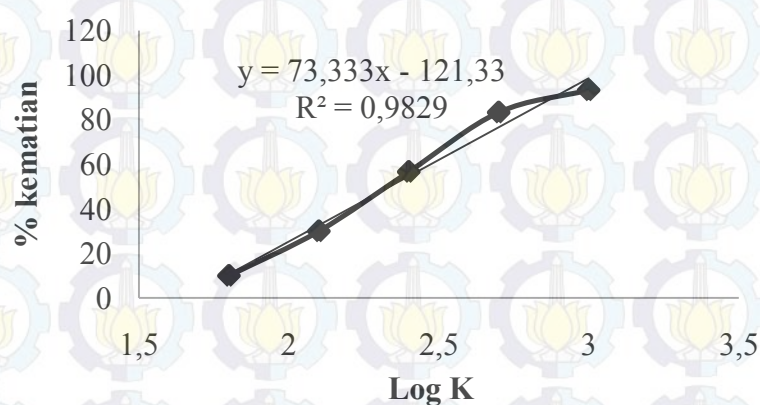
LAMPIRAN J

PERHITUNGAN NILAI LC₅₀

J.1 Perhitungan Nilai LC₅₀ Ligan BNPB

Tabel J.1 Data kematian larva pada variasi konsentrasi larutan ligan BNPB

Konsentrasi (K)	Log K	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian
62,5	1,8	1	0,1	10
		1		
		1		
125	2,1	3	3	30
		3		
		3		
250	2,4	5	5,666	56,66
		6		
		6		
500	2,7	8	8,333	83,33
		9		
		8		
1000	3	9	9,333	93,33
		10		
		9		



Gambar J.1 Kurva uji BSLT ligan BNPB

$$y = 73,333x - 121,33$$

$$LC_{50} = 73,333x - 121,33$$

dengan memasukkan nilai 50 sebagai LC_{50} , maka:

$$50 = 73,333x - 121,33$$

$$x = \frac{50 + 121,33}{73,333}$$

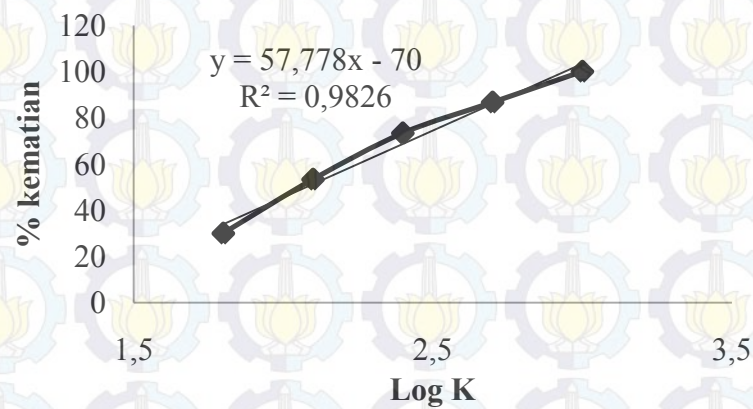
$$x = 2,336$$

$$\text{antilog } x = 216,93 \text{ mg/l (nilai } LC_{50})$$

J.2 Perhitungan Nilai LC_{50} Kompleks Cu(II)-BNBP

Tabel J.2 Data kematian larva pada variasi konsentrasi larutan kompleks Cu(II)-BNBP

Konsentrasi (K)	Log K	Larva mati (triplo)	Rata-rata larva mati	% kematian
62,5	1,8	2	0,3	30
		3		
		4		
125	2,1	5	5,333	53,33
		6		
		5		
250	2,4	8	7,333	73,33
		7		
		7		
500	2,7	8	8,667	86,67
		9		
		9		
1000	3	10	10	100
		10		
		10		



Gambar J.2 Kurva uji BSLT kompleks

$$y = 57,778x - 70$$

$$LC_{50} = 57,778x - 70$$

dengan memasukkan nilai 50 sebagai LC_{50} , maka:

$$50 = 57,778x - 70$$

$$x = \frac{50 + 70}{57,778}$$

$$x = 2,076$$

antilog x = 119,37 mg/l (nilai LC_{50})

BIODATA PENULIS



Penulis dengan nama lengkap Elok Farda, lahir di Gresik pada 31 Maret 1991, merupakan anak ke dua dari empat bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal di SDN Wadeng 2, MI Nurul Huda Wadeng Sidayu, MTs Nurul Huda Wadeng Sidayu, MA Nurul Huda Wadeng Sidayu. Penulis menyelesaikan pendidikan S1 di Universitas Negeri Surabaya (UNESA) fakultas MIPA jurusan Kimia pada tahun 2013. Pada studi S1 penulis mengambil bidang minat kimia anorganik dengan judul skripsi “Pembuatan Komposit Kitosan-Alumina dan Pemanfaatannya sebagai Adsorben Ion Logam Ni(II)” di bawah bimbingan Dina Kartika Maharani, M.Si. Pada tahun 2013 penulis mendapatkan kesempatan untuk menempuh pendidikan S2 di jurusan Kimia fakultas MIPA Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya melalui jalur Beasiswa Pendidikan Pascasarjana Dalam Negeri (BPPDN) Dikti. Penulis mengambil bidang minat yang sama yaitu kimia anorganik dengan judul tesis “Sintesis, Karakterisasi dan Uji Biokativitas Kompleks dari Ion Logam Cu(II) dengan Ligan 2,6-bis(4-nitrobenzamido)piridin” di bawah bimbingan Dr.Fahimah Martak, M.Si.

Email : fardaelok@gmail.com